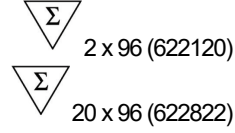


Nisan 2019

QuantiFERON[®]-TB Gold Plus (QFT[®]-Plus) ELISA Prospektüsü



Sürüm 1

IVD

İn vitro tanı amaçlı kullanım içindir

ESAT-6 ve CFP-10 peptid antijenlerine yanıtları ölçme amaçlı tam kan IFN- γ testi



REF

622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
Almanya

R6 **MAT**

1083163TR

İçindekiler

Kullanım Amacı	5
Test Özeti ve Açıklaması	5
Tahlil prensipleri	7
Tahlili gerçekleştirmek için gereken süre	9
Bileşenler ve Saklama	10
Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller	12
Numune Saklama ve Kullanma	13
Kan alma tüpleri	13
Kit reaktifleri	13
Sulandırılmış ve kullanılmamış reaktifler	13
Uyarılar ve Önlemler	14
Uyarılar	14
Önlemler	15
Numune Toplama ve Kullanımı	18
Kullanım Talimatları	24
1. Aşama – Kanın inkübasyonu ve plazmanın toplanması	24
2. Aşama – IFN- γ ELISA	25
Hesaplamalar ve Testin Yorumlanması	30
Standart eğrinin çizilmesi	30
Testin kalite kontrolü	31

Sonuçların yorumlanması	31
Sınırlamalar	34
Performans Özellikleri	35
Klinik çalışmalar	35
Tahlil performans özellikleri.....	41
Teknik Bilgiler	46
Şüpheli sonuçlar.....	46
Pıhtılaşmış plazma örnekleri	46
Sorun Giderme Kılavuzu	47
Referanslar	49
Semboller	58
İletişim Bilgileri.....	59
Kısaltılmış Test Prosedürü	60
1. Aşama – kan inkübasyonu	60
2. Aşama – IFN- γ ELISA	60
Önemli Değişiklikler.....	62
Eİ Kitabı Revizyon Geçmişi	62

Kullanım Amacı

QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) tahlili, heparinize tam kandaki hücreleri stimüle etmek için ESAT-6 ve CFP-10 proteinlerini simüle eden bir peptid kokteyli kullanan in vitro tanı amaçlı bir testtir. Enzime bağlı immünosorbent tahlili (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) vasıtasıyla interferon- γ (IFN- γ) tespiti, *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonu ile ilişkili peptid antijenlerine in vitro yanıtları belirlemek için kullanılır.

QFT-Plus, *M. tuberculosis* enfeksiyonu için (hastalık dahil) indirekt bir testtir ve risk değerlendirmesi, radyografi ve diğer tıbbi ve tanı amaçlı değerlendirmeler ile birlikte kullanıma yöneliktir.

Test Özeti ve Açıklaması

Tüberküloz, genellikle yeni konaklara respiratuar tüberküloz hastalığı olan hastalardan havadan taşınan damlacık nükleusları ile yayılan *M. tuberculosis* (MTB) kompleks organizmaları (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) enfeksiyonundan kaynaklanan bulaşıcı bir hastalıktır. Yeni enfekte olmuş bir birey haftalar ile aylar içinde tüberküloz nedeniyle hastalanabilir ancak çoğu enfekte birey sağlıklı kalmayı sürdürür. Bulaşıcı olmayan asemptomatik bir durum şeklindeki latent tüberküloz enfeksiyonu (latent tuberculosis infection, LTBI), tüberküloz hastalığının aylar veya yıllar sonra meydana gelebildiği bazı bireylerde sürer. LTBI tanısının konulmasının başlıca amacı, tüberküloz hastalığını önlemeye yönelik tıbbi tedaviyi değerlendirmektir. Bu zamana dek LTBI tanısı koymak için tüberkülin cilt testi (tuberculin skin test, TST) mevcut tek yöntem olmuştur. Tüberküline karşı kutanöz duyarlılık enfeksiyondan sonra 2 ila 10 hafta içinde gelişir. Bununla birlikte, immün fonksiyonları engelleyen çok çeşitli hastalıklara sahip bireyler dahil olmak üzere bazı enfekte bireyler ve aynı zamanda bu hastalıkların görülmediği diğer bireyler tüberküline yanıt vermez. Diğer taraftan, *M. tuberculosis* enfeksiyonu olma ihtimali beklenmeyen bazı bireyler tüberküline karşı duyarlılık gösterir ve Bacille Calmette-Guérin (BCG) ile aşılamaı takiben ya da *M. tuberculosis* kompleksinden başka mikobakteriler veya belirlenemeyen diğer faktörlerle enfeksiyon sonrası pozitif TST sonuçlarına sahiptirler.

Akciğerleri ve alt solunum yolunu tutan ancak diğer organ sistemlerini de etkileyebilen bildirilmesi zorunlu bir durum olan LTBI, tüberkülozdan ayırt edilmelidir. Tüberküloz hastalığı tanısı geçmiş, fiziksel, radyolojik, histolojik ve mikrobakteriyolojik bulgularla konur.

QFT-Plus, mikobakteriyel proteinleri simüle eden peptid antijenlere verilen hücre aracılı immün (cell-mediated immune, CMI) yanıtlara yönelik bir testtir. ESAT-6 ve CFP-10 adlı bu proteinler, tüm BCG suşlarında ve *M. kansasii*, *M. szulgai* ve *M. marinum* hariç birçok nontüberküloz mikobakteride bulunmaz (1). MTB kompleks organizmaları ile enfekte bireylerin kanında genellikle bu ve diğer mikobakteriyel antijenleri tanıyan lenfositler bulunur. Bu tanıma süreci, sitokin, IFN- γ oluşumu ve sekresyonunu içerir. IFN- γ tespiti ve sonrasında miktar tayini, bu testin temelini oluşturur.

QFT-Plus'ta kullanılan antijenler, ESAT-6 ve CFP-10 proteinlerini simüle eden bir peptid kokteylidir. Çok sayıda çalışma, bu peptid antijenlerinin genellikle, enfekte olmayan veya LTBI hastalığı ya da riski taşımayan BCG aşıları kişilerin değil, *M. tuberculosis* ile enfekte olan kişilerin T hücrelerindeki IFN- γ yanıtlarını stimüle ettiğini göstermiştir (1–32). Bununla birlikte, immün işlevselliği bozan tıbbi tedaviler veya durumlar IFN- γ yanıtlarını potansiyel olarak azaltabilir. Bazı diğer mikobakteriyel enfeksiyonların olduğu hastalar da ESAT-6 ve CFP-10'a yanıt verebilir çünkü bu proteinleri kodlayan genler *M. kansasii*, *M. szulgai* ve *M. marinum*'da bulunur (1, 23). QFT-Plus, hem LTBI'ye yönelik bir testtir hem de hasta kişilere *M. tuberculosis* kompleks enfeksiyonu tanısı koymak için faydalı bir yardımcıdır. Pozitif sonuç tüberküloz hastalığı tanısını destekler ancak diğer mikobakterilerle (örn. *M. kansasii*) enfeksiyonlar da pozitif sonuçlara yol açabilir. Tüberküloz hastalığını doğrulamak veya ekarte etmek için başka medikal ve tanı amaçlı değerlendirmeler gereklidir.

QFT-Plus'ın iki ayrı TB antijen tüpü mevcuttur: TB Antigen Tube 1 (TB1) ve TB Antigen Tube 2 (TB2). Her iki tüp, MTB kompleksi ile ilişkili antijenler ESAT-6 ve CFP-10'dan peptid antijenleri içerir. TB1 tüpü, CD4⁺ T-yardımcı lenfositlerinden CMI yanıtlarını almak için tasarlanmış ESAT-6 ve CFP-10'dan peptidleri içerirken, TB2 tüpü CD8⁺ sitotoksik T lenfositlerinden CMI yanıtlarının indüksiyonunu hedefleyen ek bir peptid seti içerir. MTB enfeksiyonunun doğal öyküsünde, CD4⁺ T hücreleri sitokin IFN- γ sekresyonları aracılığıyla immünolojik kontrolde önemli bir rol oynar. Kanıtlar artık CD8⁺ T hücrelerinin, MTB'nin çoğalmasını baskılamak, enfekte hücreleri öldürmek veya hücre içi MTB'yi doğrudan parçalamak için makrofajları aktive eden IFN- γ ve diğer çözünür faktörleri üreterek, MTB'ye karşı konak savunmasına katıldıklarını desteklemektedir (33–35). IFN- γ üreten CD8⁺ hücrelerinin sıklıkla görülebildiği LTBI'lı ve aktif TB hastalığı olan kişilerde MTB'ye özgü CD8⁺ hücreleri saptanmıştır (36–38). Ayrıca, ESAT-6 ve CFP-10'a özgü CD8⁺ T lenfositlerinin, LTBI'ya kıyasla aktif TB hastalığı olan kişilerde daha sık saptanmakta olduğu ve yakın geçmişte MTB'ye maruz kalma ile ilişkili olabileceği tanımlanmıştır (39–41). Bunun yanı sıra, IFN- γ üreten MTB'ye özgü CD8⁺ T hücreleri, HIV koenfeksiyonu olan aktif TB hastalarında (42, 43) ve TB hastalığı olan küçük çocuklarda da (44) saptanmıştır.

Tahlil prensipleri

QFT-Plus tahlilinde tam kan almak için kullanılan özel kan alma tüpleri kullanılır. Tüpler içinde 16 ila 24 saatte meydana gelen kan inkübasyonundan sonra plazma toplanır ve peptid antijenlerine yanıt olarak üretilen IFN- γ varlığı bakımından test edilir.

QFT-Plus testi iki aşamada gerçekleştirilir. Öncelikle, bir Nil tüpü, TB1 tüpü, TB2 tüpü ve bir Mitogen tüpünden oluşan QFT-Plus Blood Collection Tube'ların her birine tam kan alınır. Alternatif olarak kan, antikoagülan olarak lityum heparin veya sodyum heparin içeren tek bir jenerik kan alma tüpüne alınabilir ve ardından QFT-Plus tüplerine aktarılabilir.

Mitogen tüpü QFT-Plus testinde pozitif kontrol olarak kullanılır. Bireyin immün durumuna ilişkin şüphe bulunan durumlarda bu önemli olabilir. Mitogen tüpü doğru kan kullanımı ve inkübasyonu için bir kontrol olarak da işlev görür.

QFT-Plus tüpleri, antijeni kanla karıştırmak için çalkalanır ve mümkün olan en kısa zamanda, kan alımından sonraki 16 saat içinde 37°C'de inkübe edilmesi gerekir. 16 ila 24 saatlik bir inkübasyon süresinin ardından, tüpler santrifüjlenir, plazma çıkarılır ve ELISA aracılığıyla IFN- γ (IU/ml) miktarı ölçülür. QFT-Plus ELISA, referans IFN- γ hazırlığına göre tahlil edilmiş rekombinant insan IFN- γ standardı kullanır (NIH Ref: Gxg01-902-535). Test örneğinin sonuçları, kitle birlikte verilen standardın test dilüsyonlarında hazırlanan standart eğriye göre ml başına Uluslararası Birimlerde (International Units, IU/ml) raporlanır.

Bazı kişilerin serumunda veya plazmasında bulunan heterofil (örn. insan anti-fare) antikorların immün tahlilleriyle etkileşime neden olduğu bilinmektedir. QFT-Plus ELISA'da heterofil antikorların etkisi, Yeşil Seyrelticiye normal fare serumu eklenmesiyle ve F(ab')₂ monoklonal antikor parçalarının mikropalakaya kaplanan IFN- γ yakalama antikoru olarak kullanılmasıyla minimum düzeye düşürülür.

QFT-Plus tahlili, Nil IFN- γ IU/ml değerinin çok üzerinde olan herhangi bir TB antijen tüpüne verilen IFN- γ yanıtı için pozitif olarak kabul edilir. Mitogen tüpündeki plazma örneği, test edilen her numune için bir IFN- γ pozitif kontrolü olarak işlev görür. Mitogen'e düşük yanıt alınması (<0,5 IU/ml), kan örneği aynı zamanda TB antijenlerine reaktif olmayan bir yanıt veriyorsa şüpheli bir sonuca işaret eder. Bu durum, yetersiz lenfosit, hatalı numune kullanımına bağlı düşük lenfosit aktivitesi, Mitogen tüpünün yanlış doldurulması/karıştırılması veya hastanın lenfositlerinin IFN- γ üretememesi halinde görülebilir. Heterofil antikorların varlığında veya intrensek IFN- γ sekresyonu durumunda Nil örneğinde yüksek IFN- γ seviyeleri görülebilir. Nil tüpü arka plana göre ayarlanır (örn. yüksek seviyelerde IFN- γ dolaşımı veya heterofil antikorların varlığı). Nil tüpünün IFN- γ seviyesi TB antijen tüpleri ve Mitogen tüpü için IFN- γ seviyesinden çıkarılır.

Tahlili gerçekleştirmek için gereken süre

QFT-Plus ELISA testini gerçekleştirmek için gereken tahmini süre aşağıda belirtilmiştir; gruplandırılmış birden fazla örneğin test süresi de ayrıca gösterilmiştir:

Kan tüplerinin 37°C'de

inkübasyonu: 16 ila 24 saat

ELISA:

Bir ELISA plakası için yaklaşık 3 saat

(22 kişi)

<1 saat işçilik

Her bir ekstra plaka için 10 ila 15 dakika eklenmelidir

Bileşenler ve Saklama

Kan Alma Tüpleri*		200 tüp	Tek Hasta Paketi	Dağıtma Paketi	200 HA tüp	HA Tek Hasta Paketi	HA Dağıtma Paketi
Katalog no.		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Test/paket sayısı		50	10	25	50	10	25
QuantIFERON Nil Tube (gri kapaklı, beyaz halkalı)	Nil	50 tüp	10 tüp	25 tüp			
QuantIFERON TB1 Tube (yeşil kapaklı, beyaz halkalı)	TB1	50 tüp	10 tüp	25 tüp			
QuantIFERON TB2 Tube (sarı kapaklı, beyaz halkalı)	TB2	50 tüp	10 tüp	25 tüp			
QuantIFERON Mitogen Tube (mor kapaklı, beyaz halkalı)	Mitogen	50 tüp	10 tüp	25 tüp			
QuantIFERON Nil HA Tube (gri kapaklı, sarı halkalı)	Nil HA				50 tüp	10 tüp	25 tüp
QuantIFERON TB1 HA Tube (yeşil kapaklı, sarı halkalı)	TB1 HA				50 tüp	10 tüp	25 tüp
QuantIFERON TB2 HA Tube (sarı kapaklı, sarı halkalı)	TB2 HA				50 tüp	10 tüp	25 tüp
QuantIFERON Mitogen HA Tube (mor kapaklı, sarı halkalı)	Mitogen HA				50 tüp	10 tüp	25 tüp
QFT-Plus Blood Collection Tubes rospektüsü		1	1	1	1	1	1

* Tüm ürün konfigürasyonları her ülkede mevcut değildir. Sipariş edilebilecek mevcut konfigürasyonlarla ilgili daha fazla bilgi için lütfen QIAGEN Müşteri Hizmetlerine (ayrıntılar www.qiagen.com adresinde mevcuttur) başvurun.

ELISA bileşenleri†	2 Plakalı ELISA Kiti	Referans Laboratuvar Paketi
Katalog no.	622120	622822
Murin anti-insan IFN- γ monoklonal antikorlu kaplı Microplate Strips (Mikroplaka Stripleri) (12 x 8 kuyu)	2 x 96 kuyulu kroplaka Stribi	20 x 96 kuyulu kroplaka Stribi
IFN- γ Standard (IFN- γ Standardı), liyofilize (rekombinant insan IFN- γ , bovin kazein, %0,01 a/h Timerosal)	1 x şişe (sulandırıldığında 8 IU/ml)	10 x şişe (sulandırıldığında 8 IU/ml)
Green Diluent (Yeşil Seyreltici) (bovin kazein, normal fare serumu, %0,01 a/h Timerosal içerir)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x Konsantre), liyofilize (murin anti-insan IFN- γ HRP, %0,01 a/h Timerosal içerir)	1 x 0,3 ml (sulandırıldığında)	10 x 0,3 ml (sulandırıldığında)
Wash Buffer 20x Concentrate (Yıkama Tamponu 20x Konsantre) (pH 7,2, %0,05 h/h ProClin® 300 içerir)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzim Substrat Solüsyonu) (H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' Tetrametilbenzidin içerir)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzim Durdurma Solüsyonu) (0,5M H ₂ SO ₄ içerir)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
QFT-Plus ELISA Prospektüsü	1	1

† Önlemler ve tehlike bildirimleri için bkz. sayfa 15.

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller

- 37°C ± 1°C inkübatör*. CO₂ gerekmez
- 10 µl ila 1000 µl uygulama için kalibre edilmiş değişken hacimli pipetler* ve tek kullanımlık uçları
- 50 µl ve 100 µl uygulama kapasiteli, kalibre edilmiş çok kanallı pipet* ve tek kullanımlık uçları
- Plaka kapağı
- Mikroplaka çalkalayıcı*
- 2 litre deiyonize veya distile su
- Mikroplaka yıkayıcı (otomatik yıkayıcı tavsiye edilir)
- 620 ile 650 nm arasında bir referans filtreyle 450 nm'lik filtreli mikroplaka okuyucu*

* Cihazların üreticinin önerilerine göre kontrol ve kalibre edildiğinden emin olun.

Numune Saklama ve Kullanma

Kan alma tüpleri

- Kan alma tüplerini 4°C ila 25°C'de saklayın.

Kit reaktifleri

- Kit reaktiflerini 2°C ila 8°C'de saklayın.
- Enzim Substrat Solüsyonunu daima doğrudan güneş ışığından koruyun.

Sulandırılmış ve kullanılmamış reaktifler

Reaktiflerin sulandırılmasına yönelik talimatlar için bkz. sayfa 26.

- Sulandırılan kit standardı, 2°C ila 8°C'de saklandığı takdirde 3 aya kadar muhafaza edilebilir.

Kit standardının sulandırıldığı tarihi kaydedin.

- Sulandırıldığında, kullanılmamış Konjugat 100x Konsantreyi 2°C ila 8°C'de saklanmaya devam edilmeli ve 3 ay içinde kullanılmalıdır.

Konjugatın sulandırıldığı tarihi kaydedin.

- Kullanıma hazır konjugat, hazırlanmasından itibaren 6 saat içinde kullanılmalıdır.
- Kullanıma hazır yıkama tamponu oda sıcaklığında 2 haftaya kadar saklanabilir.

Uyarılar ve Önlemler

Sadece in vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

Uyarılar

- Negatif QFT-Plus sonucu, *M. tuberculosis* enfeksiyonu veya tüberküloz hastalığını olasılık dışında bırakmaz. Yanlış negatif sonuçlar; enfeksiyon aşaması (örn. hücresel immün yanıt gelişiminden önce alınan numune), immün fonksiyonları etkileyen komorbid durumlar, venipunktür sonrası kan alma tüplerinin yanlış kullanılması, hatalı tahlil performansı veya diğer immünojenik değişkenlerden kaynaklanabilir.
- Pozitif QFT-Plus sonucu, *M. tuberculosis* enfeksiyonunun tayininde tek veya kesin dayanak olmamalıdır. Hatalı tahlil performansı yanlış pozitif yanıtlara neden olabilir.
- Pozitif QFT-Plus sonucunu, aktif tüberküloz hastalığı için daha ileri tıbbi değerlendirme ve tanı amaçlı değerlendirme izlemelidir (örn. AFB simiri ve kültürü, göğüs röntgeni).
- ESAT-6 ve CFP-10 tüm BCG suşlarında ve bilinen nontüberküloz mikobakterilerin birçoğunda bulunmazken, pozitif bir QFT-Plus sonucu *M. kansasii*, *M.szulgai* veya *M. marinum* enfeksiyonundan kaynaklanabilir. Bu tür enfeksiyonlardan şüphelenilirse alternatif testler gerçekleştirilmelidir.

Önlemler

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (safety data sheets, SDS'ler) başvurun. Bunlar, her bir QIAGEN kiti ve kit bileşenine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz www.qiagen.com/safety adresinde çevrimiçi olarak kullanışlı ve kompakt PDF biçiminde mevcuttur.



DİKKAT: İnsan kanını ve plazmasını kullanırken potansiyel enfeksiyöz olarak değerlendirin. İlgili kan ve kan ürünü kullanımı yönergelerine uyun. Kan veya kan ürünleri ile temas eden örnekleri ve materyalleri federal, ulusal ve yerel düzenlemelere uygun şekilde imha edin.

Aşağıdaki tehlikeler ve önleyici bildirimler QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA bileşenleri için geçerlidir.

Tehlike Bildirimleri



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

İçerir: sulfuric acid. Uyarı! Metaller için aşındırıcı olabilir. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur. Koruyucu eldiven/ koruyucu giysi/ göz koruması/ yüz koruması kullanın.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Uyarı! Hafif derecede cilt tahrişine neden olur. Koruyucu eldiven/ koruyucu giysi/ göz koruması/ yüz koruması kullanın.



QuantiFERON Green Diluent

İçerik: trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulphophenyl)-4-(4-sulphophenylazo)pyrazole-3-carboxylate. İçerik: tartrazin. Uyarı! Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir. Koruyucu eldiven/ koruyucu giysi/ göz koruması/ yüz koruması kullanın.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

İçerik: 5-Kloro-2-metil-4-izotiyazolin-3-on ve 2-Metil-2H-izotiyazol-3-on (3:1) karışımı. Sudaki organizmalar üzerinde uzun dönemli etkilere sahiptir ve zararlıdır. Çevreye salınımından kaçının.

Önleyici Bildirimler

Kullanmadan önce özel talimatları edinin. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın. **CİLDE GELİRSE** (veya saça): Kontamine olan tüm giysileri hemen çıkarın. Cildi suyla yıkayın/duş alın. **GÖZE KAÇARSA**: Birkaç dakika suyla dikkatlice durulayın. Eğer mevcut ve kolaysa kontak lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin. Maruz kalmanız veya endişelenmeniz durumunda: Tıbbi tavsiye/yardım alın. Hemen bir ZEHİR MERKEZİ veya doktoru arayın. Ciltte tahriş veya kaşıntı olursa: Tıbbi tavsiye/yardım alın. Kontamine giysileri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. Kilit altında saklayın. İçeriği/kabı onaylı bir atık imha tesisine atın.

Daha fazla bilgi

Güvenlik Veri Sayfaları: www.qiagen.com/safety

- *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Prospektüsünde* belirtilenlerden farklı işlemler, hatalı sonuçlara yol açabilir. Lütfen kullanmadan önce talimatları dikkatlice okuyun.
- Kullanım öncesinde bir reaktif şişesinde hasar veya akma ibaresi görülüyorsa, kiti kullanmayın.

-
- **Önemli:** Şişeleri kullanmadan önce inceleyin. Konjugat veya IFN- γ Standardı şişelerinde hasar belirtileri görülüyorsa veya kauçuk mühür bozulmuş durumdaysa şişeleri kullanmayın. Kırık şişeleri işleme koymayın. Şişeleri güvenli biçimde bertaraf etmek için güvenlik önlemlerini alın. **Öneri:** Metal kıvrımlı kapak nedeniyle yaralanma riskini en aza indirmek için Konjugat veya IFN- γ Standardı şişelerini açmak üzere şişe kıvrım açıcı kullanın.
 - Farklı QFT-Plus kit gruplarından alınan Mikroplaka Striplerini, IFN- γ Standardını, Yeşil Seyrelticiyi veya Konjugat 100x Konsantreyi karıştırmayın veya kullanmayın.. Reaktiflerin son kullanma tarihleri içinde kullanılması ve lot ayrıntılarının kaydedilmesi şartıyla, diğer reaktifler (Yıkama Tamponu 20x Konsantre, Enzim Substrat Solüsyonu ve Enzim Durdurma Solüsyonu) kitler arasında değiştirilebilir.
 - Kullanılmamış reaktifleri ve biyolojik örnekleri Yerel, Ulusal ve Federal düzenlemelere uygun şekilde atın.
 - QFT-Plus Blood Collection Tube'ları veya ELISA kitini son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
 - Daima doğru laboratuvar prosedürlerine daima uyulmalıdır.
 - Laboratuvar ekipmanının kullanım için kalibre edilmiş/onaylanmış olduğundan emin olun.

Numune Toplama ve Kullanımı

QFT-Plus'ta aşaşıdaki kan alma tüpleri kullanılır:

1. Quantiferon Nil pleri (gri kapaklı, beyaz halkalı)
2. QuantiFERON TB1 pleri (yeşil kapaklı, beyaz halkalı)
3. QuantiFERON TB2 pleri (sarı kapaklı, beyaz halkalı)
4. QuantiFERON Mitogen pleri (mor kapaklı, beyaz halkalı)
5. QuantiFERON HA Nil pleri (gri kapaklı, sarı halkalı)
6. QuantiFERON HA TB 1 pleri (yeşil kapaklı, sarı halkalı)
7. QuantiFERON HA TB2 pleri (sarı kapaklı, sarı halkalı)
8. QuantiFERON HA Mitogen pleri (mor kapaklı, sarı halkalı)

Antijenler kuruyup kan alma tüplerinin i yüzeyine yapışmıştır; bu yüzden tüplerin içindeki maddelerin kanla iyice karıştırılması çok önemlidir. Kanın doğrudan QFT-Plus tüplerine alınması durumunda QFT-Plus tüpleri oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) muhafaza edilmeli ve taşınmalı ve mümkün olan en kısa sürede, kan alındıktan sonraki 16 saat içinde 37°C 'deki bir inkübatöre aktarılmalıdır. Kan alternatif olarak, QFT-Plus'a aktarımdan ve inkübasyondan önce saklamak için tekli bir lityum heparin veya sodyum heparinli tüpe alınabilir. Lityum heparin veya sodyum heparin içinde toplanan kan numuneleri, 16 saate kadar oda sıcaklığında ($17\text{--}25^{\circ}\text{C}$) saklanabilir ve ardından QFT-Plus tüplerine aktarılabilir. Lityum heparin veya sodyum heparinli tüplerdeki kan numuneleri, QFT-Plus tüplerine aktarılmadan önce 48 saate kadar $2\text{--}8^{\circ}\text{C}$ 'de de saklanabilir. "Tekli lityum veya sodyum heparinli tüpe kan alma ve ardından QFT-Plus Blood Collection Tube'lara aktarma" bölümüne bakın.

Doğrudan QFT-Plus Blood Collection Tube'lara kan alımı

1. Tüpleri uygun şekilde etiketleyin.

Her bir tüpün (Nil, TB1, TB2 ve Mitogen) kapak çıkarıldığında etiketiyle veya diğer yöntemlerle tanımlanabilir olduğundan emin olun.

Kan alma saati ve tarihinin kaydedilmesi önerilir.

2. Her hasta için, venipunktür ile doğrudan her bir QFT-Plus Blood Collection Tube'a 1 ml kan alın. Bu prosedür uzman bir flebotomist tarafından gerçekleştirilmelidir.

Önemli not: Kan doldurma sırasında sıcaklık 17°C-25°C arasında olmalıdır.

Standart QFT-Plus Blood Collection Tube'lar, deniz seviyesinin üstünde en fazla 810 m rakıma kadar kullanılabilir. Yüksek Rakım QFT-Plus Blood Collection Tube'lar, deniz seviyesinin üstünde 1020 metre ile deniz seviyesinin üstünde 1875 metre rakımda kullanılabilir.

1 ml'lik tüpler diğer tüplere göre kanı daha yavaş aldığından, tüp tamamen dolduğunda tüpü 2–3 saniye iğnenin üzerinde bekletin. Bu, doğru hacimde kanın tüpe alınmasını sağlayacaktır.

- Tüplerin yanındaki siyah işaret 0,8 ila 1,2 ml'lik onaylanmış aralığı gösterir. Herhangi bir tüpteki kan seviyesi, gösterge işaret aralığının dışındaysa yeni bir kan örneği elde edilmelidir. Tüplerin 0,8 ila 1,2 ml aralığı dışında gereğinden fazla veya az doldurulması hatalı sonuçlara yol açabilir.
- Kan alımı için "kelebek iğne" kullanılıyorsa QFT-Plus tüpleri kullanılmadan önce, hortumun kanla dolduğundan emin olmak için bir "tahliye" tüpü kullanılmalıdır.

- QFT-Plus Blood Collection Tube'lar 810 metreden yüksek bir rakımda kullanılıyorsa veya alınan kan hacmi düşükse kullanıcılar, kanı bir şırınga kullanarak alabilir ve 4 tüpün her birine hemen 1 ml aktarabilir. Emniyet nedeniyle, bu işlemi yaparken şırınga iğnesini çıkarın, ilgili güvenlik prosedürlerini uygulayarak, 4 QFT-Plus tüpünün kapaklarını çıkarın ve her bir tüpe 1 ml kan ekleyin (tüp etiketinin yanındaki siyah işaretin ortasına kadar). Kapakları sıkıca kapatın ve aşağıda anlatıldığı gibi karıştırın. Her bir tüpün (Nil, TB1, TB2 ve Mitogen) kapak çıkarıldığında etiketiyle veya diğer yöntemlerle tanımlanabilir olduğundan emin olun.

3. Tüpler doldurulduktan hemen sonra tüpleri on (10) defa, tüpün iç yüzeyinin tamamen kanla kaplanmasına yetecek kadar güçlü bir şekilde çalkalayın. Bu işlem tüp duvarlarındaki antijenleri çözer.

Önemli not: Çalkalama sırasında tüpler 17°C–25°C arası sıcaklıkta olmalıdır. Aşırı şiddetli çalkalama jel bozunumuna ve anormal sonuçların alınmasına neden olabilir.

4. Etiketleme, doldurma ve çalkalama sonrasında, tüpler mümkün olan en kısa sürede ve kan alımından sonraki 16 saat içinde 37°C ± 1°C'deki bir inkübatöre aktarılmalıdır. İnkübasyon öncesinde, tüpleri oda sıcaklığında (22°C ± 5°C) muhafaza edin ve taşıyın. QFT-Plus tüpleri, kan alma ve çalkalama işlemlerinden hemen sonra 37°C'de inkübe edilmezse 37°C'de inkübasyondan önce tüpleri karıştırmak için 10 defa ters çevirin.

5. QFT-Plus tüplerini, 37°C ± 1°C'de 16 ila 24 saat süresince DİK olarak inkübe edin. İnkübatör, CO₂ veya nemlendirme gerektirmez.

Tekli lityum veya sodyum heparinli tüpe Kan Alma ve ardından QFT-Plus Blood Collection Tube'lara aktarma

1. Kan, antikoagülan olarak lityum veya sodyum heparin içeren tek bir kan alma tüpüne alınabilir ve ardından QFT-Plus Blood Collection Tube'lara aktarılabilir. Diğer antikoagülanlar tahlille etkileşime girdiğinden antikoagülan olarak sadece lityum veya sodyum heparin kullanın. Tüpleri uygun şekilde etiketleyin.

Tüpün kan alma saati ve tarihiyle etiketlenmesi önerilir.

Önemli: Kan alma sırasında kan alma tüpleri oda sıcaklığında (17–25°C) olmalıdır.

2. Lityum veya sodyum heparinli bir kan alma tüpünü doldurun (minimum hacim 5 ml) ve heparini çözmek için tüpü birkaç defa ters çevirerek yavaşça karıştırın. Bu prosedür uzman bir flebotomist tarafından gerçekleştirilmelidir.
3. QFT-Plus Blood Collection Tube'lara aktarım ve inkübasyondan önce lityum veya sodyum heparinli tüpler için tutma süresi ve sıcaklığı seçenekleri (Bkz. Şekil 1-3 Kan Alma Seçenekleri).

Seçenek 1 – Lityum veya Sodyum Heparinli Tüpün Oda Sıcaklığında Saklanması ve Kullanımı Lityum veya sodyum heparinli tüpe alınan kanın, QFT-Plus Blood Collection Tube'lara aktarım ve ardından inkübasyon işleminden önce, alınmasının ardından 16 saati aşmamak üzere oda sıcaklığında (22°C ± 5°C) muhafaza edilmesi gerekir.

Seçenek 2 – Lityum veya Sodyum Heparinli Tüpün Soğutulmuş Olarak Saklanması ve Kullanımı

Önemli: a–d prosedür adımları sırayla izlenmelidir.

- a. Lityum veya sodyum heparinli tüpe alınan kan, kan alma işleminden sonra 3 saate kadar oda sıcaklığında (17–25°C) muhafaza edilebilir.
- b. Lityum veya sodyum heparinli tüpe alınan kan, 48 saate kadar soğutulabilir (2–8°C).

- c. Soğutma işleminden sonra lityum veya sodyum heparinli tüp, QFT-Plus Blood Collection Tube'lara aktarılmadan önce oda sıcaklığına (17–25°C) dengelenmelidir.
- d. Alikotlara ayrılmış QFT-Plus Blood Collection Tube'lar, kan aktarımından itibaren 2 saat içinde 37°C'deki inkübatöre yerleştirilmelidir.

QFT-Plus Blood Collection Tube'lar, QFT-Plus Blood Collection Tube'lara aktarım ve çalkalama işleminden hemen sonra 37°C'de inkübe edilmezse 37°C'de inkübasyondan önce tüpleri karıştırmak için 10 defa ters çevirin. Kan alınması ile QFT-Plus Blood Collection Tube'larda inkübasyon arasındaki süre 53 saati geçmemelidir.

4. Kan numunesinin lityum veya sodyum heparinli tüpten QFT-Plus Blood Collection Tube'lara aktarılması:

- a. Her bir QFT-Plus Blood Collection Tube'u uygun şekilde etiketleyin.

Her bir tüpün (Nil, TB1, TB2 ve Mitogen) kapak çıkarıldığında etiketiyle veya diğer yöntemlerle tanımlanabilir olduğundan emin olun. Kaydedilen kan alma saati ve tarihinin lityum veya sodyum heparinli tüplerden QFT-Plus Blood Collection Tube'lara aktarılması önerilir.

- b. Örnekler, QFT-Plus Blood Collection Tube'lara dağıtılmadan önce yavaşça ters çevrilerek eşit ölçüde karıştırılmalıdır.

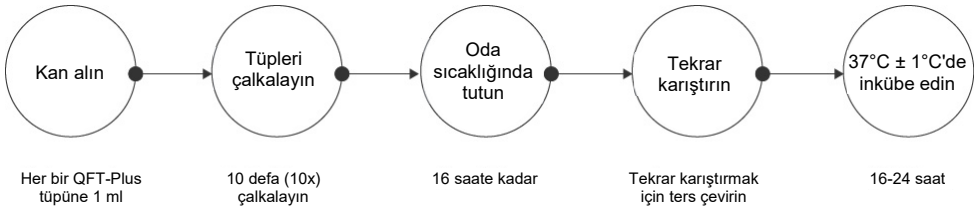
- c. Dağıtma işlemi, uygun güvenlik prosedürleri uygulanarak, 4 QFT-Plus Blood Collection Tube'un kapakları çıkarılarak ve her bir tüpe 1 ml kan eklenerek, aseptik olarak gerçekleştirilmelidir. Tüp kapaklarını sıkıca kapatın ve aşağıda anlatıldığı gibi karıştırın. Her bir tüpün (Nil, TB1, TB2 ve Mitogen) kapak çıkarıldığında etiketiyle veya diğer yöntemlerle tanımlanabilir olduğundan emin olun.

5. Tüpleri karıştırın. QFT-Plus Blood Collection Tube'lar doldurulduktan hemen sonra tüpleri on (10) defa, tüpün iç yüzeyinin tamamen kanla kaplanmasına yetecek kadar güçlü bir şekilde çalkalayın. Bu işlem tüp duvarlarındaki antijenleri çözer.

Aşırı şiddetli çalkalama jel bozunumuna ve anormal sonuçların alınmasına neden olabilir.

6. Etiketleme, doldurma ve çalkalama sonrasında tüpler, 2 saat içinde $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'deki inkübatöre aktarılmalıdır. QFT-Plus Blood Collection Tube'lar, kan alma ve çalkalama işleminden hemen sonra 37°C 'de inkübe edilmezse 37°C 'de inkübasyondan önce tüpleri karıştırmak için 10 defa (10x) ters çevirin. (Kan alma seçenekleri için sonraki sayfada Şekil 1–3'e bakın).
7. QFT-Plus Blood Collection Tube'ları $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 16 ila 24 saat DİK olarak inkübe edin. İnkübatör, CO_2 veya nemlendirme gerektirmez.

QFT-Plus Blood Collection Tube'lara kan alın ve oda sıcaklığında tutun.



Şekil 1. Kan alma seçeneği: Doğrudan QFT-Plus Blood Collection Tube'lara kan alın ve oda sıcaklığında tutun. QFT-Plus Blood Collection Tube'lara kan alınması ile 37°C 'de inkübasyon arasındaki toplam süre 16 saati aşmamalıdır.

Lityum veya sodyum heparinli tüpe kan alın ve oda sıcaklığında tutun.



Şekil 2. Kan alma seçeneği: Lityum veya sodyum heparinli tüpe kan alın ve oda sıcaklığında tutun. Lityum veya sodyum heparinli tüpe kan alınması ile 37°C 'de inkübasyon arasındaki toplam süre 16 saati aşmamalıdır.

Lityum veya sodyum heparinli tüplere kan alın ve $2-8^{\circ}\text{C}$ 'de tutun.



Şekil 3. Kan alma seçeneği: Lityum veya sodyum heparinli tüpe kan alın ve $2-8^{\circ}\text{C}$ 'de tutun. Lityum veya sodyum heparinli tüpe kan alınması ile 37°C 'de inkübasyon arasındaki toplam süre 53 saati aşmamalıdır.

Kullanım Talimatları

1. Aşama – Kanın inkübasyonu ve plazmanın toplanması

Sağlanan materyaller

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (Bkz. Bölüm 3)

Gerekli olan (ancak sağlanmayan) materyaller

- Bkz. Bölüm 3

Prosedür

1. **Kan alındıktan hemen sonra inkübe edilmezse tüplerin inkübasyondan önce 10 defa ters çevrilerek yeniden karıştırılması gerekir.**
2. **Tüpleri 37°C ± 1°C'de 16 ila 24 saat süresince DİK olarak inkübe edin. Inkübatör, CO₂ veya nemlendirme gerektirmez.**
3. **37°C'de inkübasyondan sonra, kan alma tüpleri, santrifüjlenmeden önce, 4°C ile 27°C arasında 3 güne kadar saklanabilir.**
4. **Tüplerin 37°C'de inkübasyonundan sonra, plazmanın toplanması tüplerin 15 dakika boyunca 2000 ila 3000 x RCF'de (g) santrifüjlenmesiyle kolaylaştırılır. Jel tıpası, hücreleri plazmadan ayırır. Bu durum gerçekleşmezse tüpler tekrar santrifüjlenmelidir.**

Santrifüjlemeden de plazmayı toplamak mümkündür ancak hücreleri bozmadan plazmayı ayırmak için ekstra dikkat edilmesi gereklidir.

5. **Plazma örnekleri yalnızca pipet ile toplanmalıdır.**

Önemli not: Santrifüj yaptıktan sonra, plazmayı toplamadan önce aşağı ve yukarı doğru pipetleme yapmaktan veya herhangi bir yolla plazmayı karıştırmaktan kaçının. İşlemin her aşamasında, jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin.

Plazma örnekleri doğrudan santrifüjlenmiş kan alma tüplerinden QFT-Plus ELISA plakasına yüklenebilir. Bu durum, otomatik ELISA platformları kullanıldığında da geçerlidir.

Plazma örnekleri 2°C ila 8°C'de 28 güne kadar saklanabilir veya toplanmışsa -20°C'nin altında uzun süre saklanabilir.

Yeterli test örnekleri için en az 150 µl plazma toplayın.

2. Aşama – IFN-γ ELISA

Sağlanan materyaller

- QFT-Plus ELISA kiti (Bkz. Bölüm 3)

Gerekli olan ancak sağlanmayan materyaller

- Bkz. Bölüm 3.

Prosedür

- 1. Konjugat 100x Konsantrate hariç olmak üzere tüm plazma örnekleri ve reaktifler, kullanılmadan önce oda sıcaklığına (22 C ± 5°C) getirilmelidir. Dengeleme için en az 60 dakika bekleyin.**
- 2. Gerekli olmayan stripleri çerçeveden çıkarın, folyo ambalajda yeniden mühürleyin ve gerektiğinde kullanılmak üzere saklamak için buzdolabına geri koyun.**

QFT-Plus standartları için en az 1 strip ve test edilecek kişi sayısı için yeterli sayıda strip bulundurun (bkz. Şekil 5). Kullanımdan sonra, kalan striplerle kullanılmak üzere çerçeveyi saklayın.
- 3. IFN-γ Standardını, şişe etiketinde belirtilen hacimde deiyonize veya distile suyla sulandırın. Köpürmesini azaltmak ve tamamen çözündüğünden emin olmak için hafifçe karıştırın. Standardın belirtilen hacme ulaşınca kadar sulandırılması ile 8,0 IU/ml konsantrasyonda solüsyon elde edilir.**

Önemli not: Kit standardının sulandırılma hacmi kit grupları arasında farklılık gösterir. Yeşil Seyreltici (GD) içinde 1'e 2 dilüsyon ve ardından 1'e 4 IFN- γ dilüsyon serisi oluşturmak için sulandırılmış kit standardını kullanın (bkz. Şekil 4). S1 (Standart 1) 4,0 IU/ml içerir, S2 (Standart 2) 1,0 IU/ml içerir, S3 (Standart 3) 0,25 IU/ml içerir ve S4 (Standart 4) 0 IU/ml içerir (tek başına GD). Standartlar en azından çift olarak tahlil edilmelidir. Her ELISA seansı için kit standardının dilüsyonlarını taze olarak hazırlayın.

Çift standartlar için önerilen prosedür

4 tüpü "S1", "S2", "S3", "S4" olarak etiketleyin.

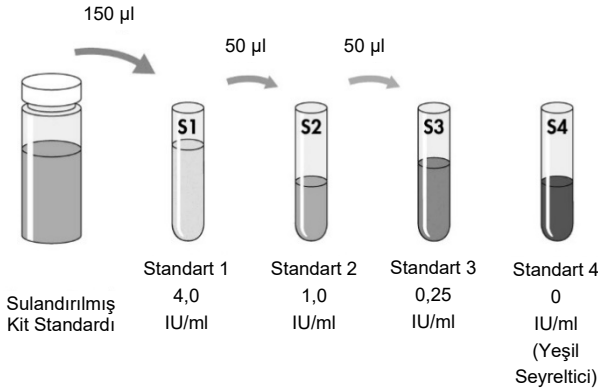
S1, S2, S3, S4'e 150 μ l GD ekleyin.

S1'e 150 μ l kit standardı ekleyin ve iyice karıştırın.

S1'den 50 μ l alıp S2'ye koyun ve iyice karıştırın.

S2'den 50 μ l alıp S3'e koyun ve iyice karıştırın.

GD tek başına sıfır standardı (S4) olarak işlev görür.



Şekil 4. Standart eğrinin hazırlanışı.

4. **Liyofilize Konjugat 100x Konsantrateyi 0,3 ml deiyonize veya distile suyla sulandırın. Köpürmesini azaltmak ve konjugatın tamamen çözündüğünden emin olmak için hafifçe karıştırın.**

Kullanıma hazır konjugat, gereken miktarda sulandırılmış Konjugat 100x Konsantratenin Yeşil Seyreltici içinde seyreltilmesiyle hazırlanır (Tablo 1. Konjugat Hazırlama). Kullanımdan hemen sonra, kalan açılmamış Konjugat 100x Konsantre'yi 2°C ila 8°C'de muhafaza etmek üzere kaldırın. Sadece Yeşil Seyreltici kullanın.

Tablo 1. Konjugat Hazırlama

Strip sayısı	Konjugat 100x Konsantrate Hacmi	Yeşil Seyreltici Hacmi
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. **Kan alma tüplerinden toplanan ve sonrasında saklanan (soğutulmuş veya dondurulmuş halde) plazma örneklerini ELISA kuyusuna eklemeyen önce karıştırın.**

Önemli not: Plazma örnekleri santrifüjlenmiş QFT-Plus tüplerinden doğrudan eklenecekse plazmanın karıştırılmasından kaçınılmalıdır. İşlemin her aşamasında, jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin.

6. **Çok kanallı pipet kullanarak, gerekli ELISA kuyularına 50 µl yeni hazırlanmış kullanıma hazır konjugat ekleyin.**

7. Çok kanallı pipet kullanarak uygun kuyulara 50 µl test plazma örneği ekleyin (Şekil 5 üzerinde önerilen plaka düzenine bakın). Son olarak, 1 ila 4 standartlarının her birine 50 µl ekleyin.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1 N	3 N	5 N	7 N	9 N	S1	S1	13 N	15 N	17 N	19 N	21 N
B	1 TB1	3 TB1	5 TB1	7 TB1	9 TB1	S2	S2	13 TB1	15 TB1	17 TB1	19 TB1	21 TB1
C	1 TB2	3 TB2	5 TB2	7 TB2	9 TB2	S3	S3	13 TB2	15 TB2	17 TB2	19 TB2	21 TB2
D	1 M	3 M	5 M	7 M	9 M	S4	S4	13 M	15 M	17 M	19 M	21 M
E	2 N	4 N	6 N	8 N	10 N	11 N	12 N	14 N	16 N	18 N	20 N	22 N
F	2 TB1	4 TB1	6 TB1	8 TB1	10 TB1	11 TB1	12 TB1	14 TB1	16 TB1	18 TB1	20 TB1	22 TB1
G	2 TB2	4 TB2	6 TB2	8 TB2	10 TB2	11 TB2	12 TB2	14 TB2	16 TB2	18 TB2	20 TB2	22 TB2
H	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

Şekil 5. Önerilen örnek düzeni (her plaka için 22 test)

S1 (Standart 1), S2 (Standart 2), S3 (Standart 3), S4 (Standart 4)

1 N (Örnek 1. Nil plazma), 1 TB1 (Örnek 1. TB1 plazma), 1 TB2 (Örnek 1. TB2 plazma), 1 M (Örnek 1. Mitogen plazma)

8. Her plakayı kapatın ve mikroparka çalkalayıcı kullanarak, konjugat ve plazma örnekleri/standartlarını 1 dakika boyunca iyice karıştırın. Sıçramayı önleyin.
9. Her plakayı kapatın ve oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) 120 ± 5 dakika inkübe edin. Plakalar inkübasyon sırasında doğrudan güneş ışığına maruz kalmamalıdır.
10. İnkübasyon sırasında, bir birim Yıkama Tamponu 20x Konsantreyi 19 birim deiyonize veya distile suyla seyreltin ve iyice karıştırın. 2 litre kullanıma hazır yıkama tamponu hazırlamak için yeterli Yıkama Tamponu 20x Konsantre sağlanmıştır..

Kuyuları 400 µl kullanıma hazır yıkama tamponuyla en az 6 defa yıkayın. Otomatik bir plaka yıkayıcı kullanılması önerilir.

Eksiksiz yıkama, tahlilin performansı için çok önemlidir. Her kuyunun, her yıkama aşamasında, yıkama tamponuyla **tamamen dolu** olduğundan emin olun. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekletme süresi önerilir.

Atık kabına standart laboratuvar dezenfektanı eklenmelidir ve potansiyel olarak enfeksiyöz materyallerinin dekontaminasyonu için belirlenmiş prosedürler uygulanmalıdır.

11. **Plakaların üzerinde kalan yıkama tamponunu gidermek için plakaları emici, az tiftikli bir havlu üzerinde ters çevirin ve arkasına vurun. Her kuyuya 100 µl Enzim Substrat Solüsyonu ekleyin, her plakayı kapatın ve bir mikropilaka çalkalayıcı kullanarak iyice karıştırın.**
12. **Her plakayı kapatın ve oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) 30 dakika inkübe edin.**

Plakalar inkübasyon sırasında doğrudan güneş ışığına maruz kalmamalıdır.
13. **30 dakikalık inkübasyonu takiben, her kuyuya 50 µl Enzim Durdurma Solüsyonu ekleyin ve karıştırın.**

Enzim Durdurma Solüsyonu, 11. adımdaki substrat ile aynı sıra ile ve yaklaşık aynı hızda kuyulara eklenmelidir.
14. **620 ile 650 nm arasında bir referans filtreyle 450 nm'lik filtresi bulunan bir mikropilaka okuyucu kullanarak, reaksiyonu durdurduktan sonraki 5 dakika içinde her bir kuyunun Optik Dansitesini (OD) ölçün. OD değerleri sonuçların hesaplanmasında kullanılır.**

Hesaplamalar ve Testin Yorumlanması

QFT Plus Analiz Yazılımı, ham verilerin analizi ve sonuçların hesaplanmasında kullanılabilir. **www.QuantiFERON.com** adresinden edinilebilir. Lütfen QFT-Plus Analiz Yazılımının en güncel sürümünün kullanıldığından emin olun.

Yazılım, Sonuçların Yorumlanması bölümünde detaylı şekilde anlatıldığı gibi, tahlilin kalite kontrol değerlendirmesini gerçekleştirir, bir standart eğri oluşturur ve her kişi için bir test sonucu sunar.

QFT-Plus Analiz Yazılımını kullanmak yerine, sonuçlar aşağıdaki yöntemle göre belirlenebilir.

Standart eğrinin çizilmesi

(QFT-Plus Analiz Yazılımı kullanılmazsa)

Her plakadaki kit standardı tekrarlarından ortalama OD değerlerini belirleyin.

Ortalama OD $\log_{(e)}$ 'una (y eksenini) karşı standartların IU/ml cinsinden IFN- γ konsantrasyonu $\log_{(e)}$ 'unu (x eksenini) çizerek bir (e) - $\log_{(e)}$ standart eğrisi oluşturun; sıfır standardını bu hesaplamalara katmayın. Standart eğrinin en iyi uyum doğrusunu regresyon analizi ile hesaplayın.

Her bir örneğin OD değerini kullanarak, her bir test plazma örneğinin IFN- γ konsantrasyonunu (IU/ml) belirlemek için standart eğriyi kullanın.

Bu hesaplamalar, mikropilaka okuyucularla gelen yazılım paketleri ve standart çalışma sayfası veya istatistik yazılımları (Microsoft® Excel® gibi) kullanılarak da yapılabilir. Bu paketlerin, regresyon analizinin, standartların varyasyon katsayısının (coefficient of variation, %CV) ve standart eğrinin korelasyon katsayısının (r) hesaplanmasında kullanılması önerilir.

Testin kalite kontrolü

Test sonucunun kesinliği, doğru bir standart eğrinin oluşturulmasına bağlıdır. Bu yzden, test rneği sonuqları yorumlanmadan nce standartlardan edinilen sonuqlar gzden geğirilmelidir.

ELISA'nın geçerli olması için:

- Standart 1'in ortalama OD değerleri $\geq 0,600$ olmalıdır.
- Standart 1 ve Standart 2'nin tekrar OD değerleri için $\%CV \leq \%15$ olmalıdır.
- Standart 3 ve Standart 4'ün tekrar OD değerleri ile ortalamaları arasında 0,040 optik dansite biriminden fazla fark olmamalıdır.
- Standartların ortalama absorbans değerlerinden hesaplanan korelasyon katsayısı (r) $\geq 0,98$ olmalıdır.

QFT-Plus Analiz Yazılımı bu kalite kontrol parametrelerini hesaplar ve raporlar.

Yukarıdaki kriterler karşılanmıyorsa ęalıřma geğersiz kabul edilmeli ve tekrarlanmalıdır.

Sıfır Standardının (Yeşil Seyreltici) ortalama OD değerleri $\leq 0,150$ olmalıdır. Ortalama OD değerleri $> 0,150$ ise plaka yıkama prosedürü gzden geğirilmelidir.

Sonuqların yorumlanması

QFT-Plus sonuqları aşağıdaki kriterler kullanılarak yorumlanır (Tablo 2):

Önemli not: Tüberküloz hastalığı tanısının konması veya hastalığın ekarte edilmesi ve LTBI olasılığının değerlendirilmesi, QFT-Plus sonuqlarını yorumlarken dikkate alınması gereken epidemiyolojik, geğmiş, tıbbi ve tanı amaçlı bulguların kombinasyonunu gerektirir.

Tablo 2. QFT-Plus sonuçlarının yorumlanması

Nil (IU/ml)	TB1 eksi Nil (IU/ml)	TB2 eksi Nil (IU/ml)	Mitogen eksi Nil (IU/ml)*	QFT-Plus Sonucu	Rapor/Yorumlama
	≥0,35 ve Nil değerinin ≥%25'i	Tümü			
	Tümü	≥0,35 ve Nil değerinin ≥%25'i	Tümü	Pozitif†	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olası
≤8,0	<0,35 veya ≥0,35 ve Nil değerinin <%25'i	<0,35 veya ≥0,35 ve Nil değerinin <%25'i	≥0,5	Negatif	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olası DEĞİL
	<0,35 veya ≥0,35 ve Nil değerinin <%25'i	<0,35 veya ≥0,35 ve Nil değerinin <%25'i	<0,5	Şüpheli‡	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olasılığı tespit edilemiyor
> 8,0§		Tümü		Şüpheli‡	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olasılığı tespit edilemiyor

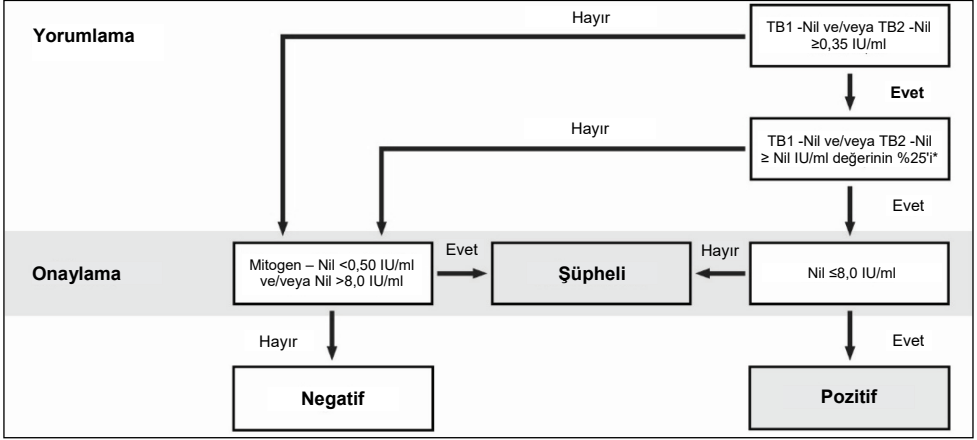
* Mitogen pozitif kontrolüne (ve zaman zaman TB Antijenlerine) verilen yanıtlar sıklıkla mikroplaka okuyucuların okuma aralığının dışında kalabilir. Bu durumun test sonuçlarına herhangi bir etkisi olmaz. >10 ml'lik değerler QFT-Plus yazılımı tarafından >10 IU/ml olarak raporlanır.

† *M. tuberculosis* enfeksiyonundan şüphelenilmeyen durumlarda, başlangıçta pozitif olan sonuçlar, QFT-Plus ELISA'da orijinal plazma örneklerinin çift olarak yeniden test edilmesiyle doğrulanabilir. Bir veya iki tekrarlamanın tekrar testi pozitifse kişinin testi pozitif olarak değerlendirilmelidir.

‡ Olası nedenleri için "Sorun Giderme" kısmına bakın.

§ Klinik çalışmalarda hastaların %0,25'inden azında, Nil değeri için >8,0 IU/ml IFN- γ seviyeleri söz konusu olmuştur.

Ölçülen IFN- γ seviyesinin büyüklüğü, enfeksiyon aşaması veya derecesi, immün yanıt verebilirlik seviyesi ya da aktif hastalığa ilerleme olasılığı ile korele edilemez. Mitogen'e karşı negatif olan kişilerde pozitif bir TB yanıtı nadirdir ancak TB hastalığı olan hastalarda görülmüştür. Bu durum, TB Antijenine verilen IFN- γ yanıtının Mitogen'e verilen yanıtın daha büyük olduğunu gösterir ve bu durum, Mitogen seviyesi lenfositler tarafından IFN- γ üretimini azami ölçüde stimüle etmediği için mümkündür.



* TB1 eksi Nil veya TB2 eksi Nil'in geçerli olması için ≥ 25 Nil IU/ml değerinin miktarı, orijinal $\geq 0,35$ IU/ml sonucu ile aynı tüpten kaynaklanmalıdır.

Şekil 6. QFT-Plus yorumlama akış şeması

Sınırlamalar

QFT-Plus test sonuçları, her bireyin kendi epidemiyolojisi, mevcut tıbbi durumu ve diğer tanı amaçlı değerlendirmeleriyle birlikte kullanılmalıdır.

Nil değerleri 8,0 IU/ml'den büyük olan bireyler "Şüpheli" olarak sınıflandırılır çünkü TB antijenlerine verilen %25'ten yüksek bir yanıt, tahlil ölçüm aralığının dışında olabilir.

Aşağıdakilere bağlı olarak emin olunmayan veya şüpheli sonuçlar elde edilebilir:

- Bu prospektüste anlatılan prosedürden farklı işlemler
- Aşırı yüksek seviyelerde IFN- γ dolaşımı veya heterofil antikorların varlığı
- Kan numunesinin alınması ile 37°C'de inkübasyon arasında 16 saatten fazla zaman geçmiş olması. Bu durum, lityum heparin veya sodyum heparinli tüp 2-8°C iş akışı kullanılıyorsa geçerli değildir.

Performans Özellikleri

Klinik alışmalar

LTBI'ya yönelik kesin bir standart test bulunmadığı için QFT-Plus'ın tahmini duyarlılık veya özgüllüğüne yönelik bir tahmin pratik olarak değerlendirilemez. QFT-Plus'ın özgüllüğü, düşük tüberküloz enfeksiyonu riski olan (bilinen risk faktörleri olmayan) kişilerde yanlış pozitif oranlar değerlendirilerek yaklaşık olarak tahmin edilmiştir. Duyarlılık, kültürlü doğrulanmış aktif TB hastalığı olan hasta grupları değerlendirilerek yaklaşık olarak tahmin edilmiştir.

Özgüllük

409 kişide QFT-Plus özgüllüğünü değerlendiren bir çalışma sonuçlandırılmıştır. TB'ye maruz kalma için demografik bilgiler ve risk faktörleri, test sırasında standart bir anket kullanılarak belirlenmiştir.

Tüberküloz enfeksiyonu riski düşük olan (bilinen risk faktörleri olmayan) 2 hasta grubundan elde edilen bulguların özetinde, toplam QFT-Plus özgüllüğü %97,6 olmuştur (399/409) (Tablo 3 ve Tablo 4).

Tablo 3. Çalışma sahasına göre QFT-Plus özgüllük çalışması sonuçları

Çalışma	Pozitif	Negatif	şüpheli	Özgüllük (%95 CI)
Japonya	4	203	0	%98 (%95–100)
Avustralya	6	196	0	%97 (%94–99)

Tablo 4. TB Antigen Tube'a göre QFT-Plus özgüllük çalışması sonuçları

Çalışma	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitif	5	10	10
Negatif	404	399	399
Şüpheli	0	0	0
Özgüllük (%95 CI)	%98,8 (97,2–99,6)	%97,6 (95,6–98,8)	%97,6 (95,6–98,8)

Aktif TB için duyarlılık

LTBI'ya yönelik kesin bir standart test bulunmasa da, hastalığın olduğu kişiler tanım gereği enfekte olduğundan *M. tuberculosis* mikrobiyolojik kültürü uygun bir şekilde bunun yerini tutar. Sonrasında kültür testi ile *M. tuberculosis* enfeksiyonu olduğu doğrulanmış Avustralya ve Japonya'daki 4 çalışma sahasından TB şüphesi taşıyan kişiler, QFT-Plus duyarlılığının değerlendirilmesi için test edilmiştir (Tablo 5 ve Tablo 6). QFT-Plus testi için kan alma öncesi hastalar, 14 günden az bir süre boyunca tedavi görmüşdür.

M. tuberculosis kültür pozitif hastalardan oluşan 4 gruptan elde edilen bulguların özetinde, aktif TB hastalığı için toplam QFT-Plus duyarlılığı %95,3 olmuştur (164/172). 4 grup içinde 159 hastanın hem TB1 hem de TB2 tüpleriyle pozitif, 1 hastanın yalnızca TB1 ile pozitif ve 4 hastanın yalnızca TB2 ile pozitif olduğu belirlenmiştir. Sonuçların toplam %1,1'i (2/174) şüphelidir. TB2 sonucu, tek başına TB1 sonucuna göre şüpheli olan (düşük Mitogen) kültürle doğrulanmış 1 hastayı doğru olarak tanımlamıştır (bkz. Tablo 5 ve Tablo 6).

Tablo 5. Çalışma sahasına göre QFT-Plus duyarlılık çalışması sonuçları

Çalışma sahasları	Pozitif	Negatif	Şüpheli	QFT-Plus duyarlılığı* (%95 CI)
Japonya sahası 1	36	7	0	%84 (69–93)
Japonya sahası 2	53	1	2	%98 (90–100)
Japonya sahası 3	54	0	0	%100 (93–100)
Avustralya sahası	21	0	0	%100 (84–100)

* Duyarlılık, şüpheli sonuçlar hariç olmak üzere, toplam geçerli test sayısına bağlıdır.

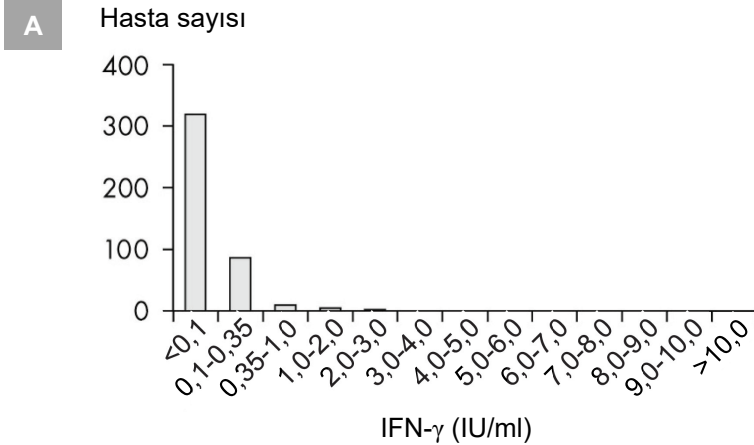
Tablo 6. TB Antigen Tube'a göre QFT-Plus duyarlılık çalışması sonuçları

	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitif	160	163	164
Negatif	11	9	8
Şüpheli	3	2	2
Duyarlılık† (%95 CI)	%93,6 (88,8–96,7)	%94,8 (90,3–97,6)	%95,3 (90,9–97,9)

* Duyarlılık, şüpheli sonuçlar hariç olmak üzere, toplam geçerli test sayısına bağlıdır.

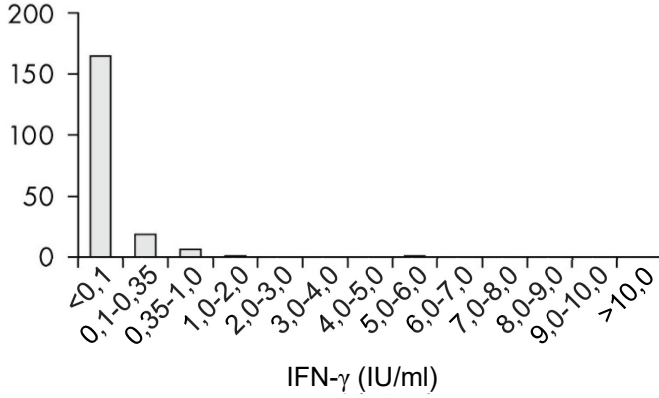
Gözlenen yanıt dağılımları – riske göre sınıflandırılmış

Klinik çalışmalarda TB1, TB2 ve kontrol tüplerine verilen bir dizi IFN- γ yanıtı gözlemlenmiş ve *M. tuberculosis* enfeksiyonu riskine göre sınıflandırılmıştır (Şekil 7-9). Karışık risk grubu, TB'ye maruz kalma bakımından risk faktörleri olan ve olmayan ve aktif TB olma ihtimali beklenilmeyen (örn. LTBI) kişiler dahil olmak üzere, genel test popülasyonunun bir temsili olan kişilerden oluşur.

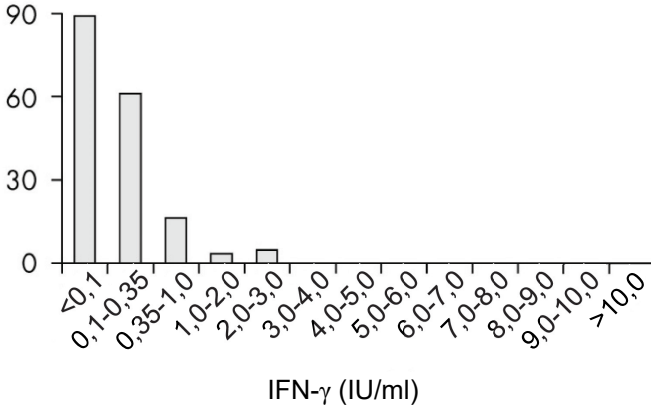


B

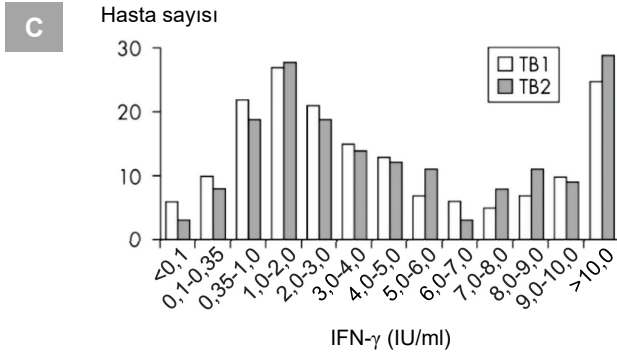
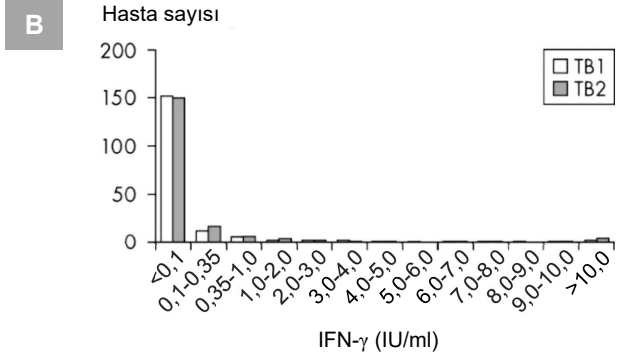
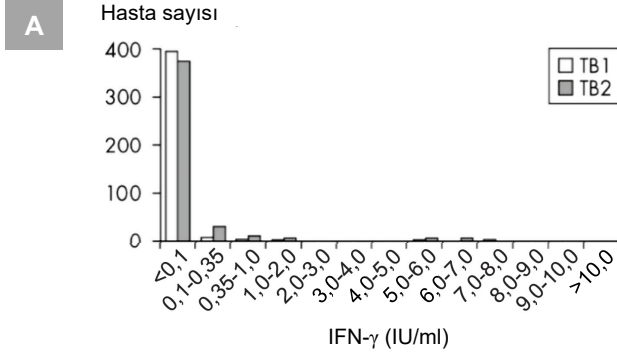
Hasta sayısı

**C**

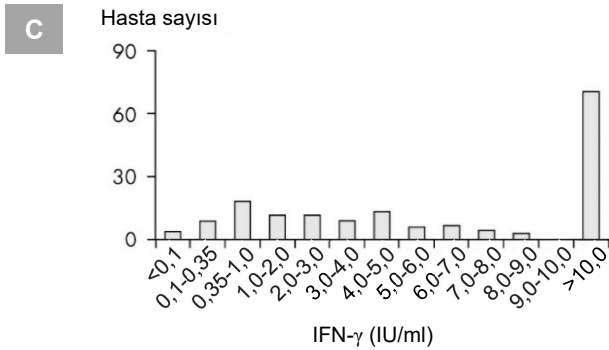
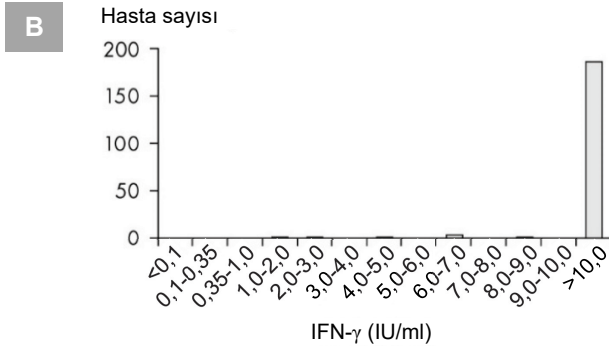
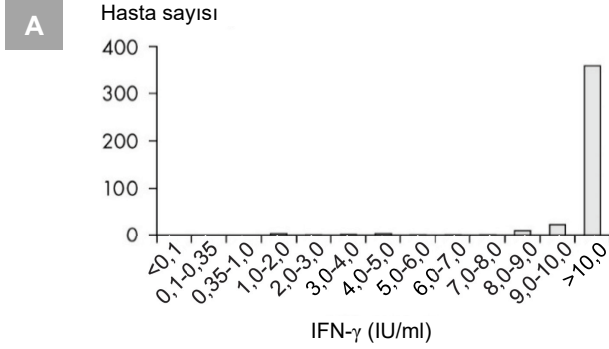
Hasta sayısı



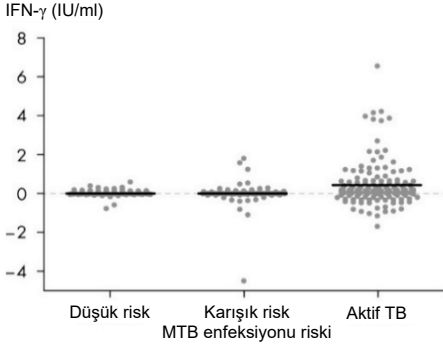
Şekil 7. Nil dağılımı. **A.** Düşük riskli bir popülasyonda Nil değerlerinin dağılımı (n=409). **B.** Karışık riskli bir popülasyonda Nil değerlerinin dağılımı (n=194). **C.** Kültürle doğrulanmış *M. tuberculosis* enfeksiyonu olan bir popülasyonda Nil değerlerinin dağılımı (n=174).



Şekil 8. TB1 ve TB2 dağılımı (nil çıkarılmış). **A.** Düşük riskli bir popülasyonda TB1 ve TB2 değerlerinin (nil çıkarılmış) dağılımı (n=409). **B.** Karışık riskli bir popülasyonda TB1 ve TB2 değerlerinin (nil çıkarılmış) dağılımı (n=194). **C.** Kültür doğrulanmış *M. tuberculosis* enfeksiyonu olan bir popülasyonda TB1 ve TB2 değerlerinin (nil çıkarılmış) dağılımı (n=174).



Şekil 9. Mitogen dağılımı (nil çıkarılmış). **A.** Düşük riskli bir popülasyonda Mitogen değerlerinin (nil çıkarılmış) dağılımı (n = 409). **B.** Karışık riskli bir popülasyonda Mitogen değerlerinin (nil çıkarılmış) dağılımı (n = 194). **C.** Kültürle doğrulanmış *M. tuberculosis* enfeksiyonu olan bir popülasyonda Mitogen değerlerinin (nil çıkarılmış) dağılımı (n=169).

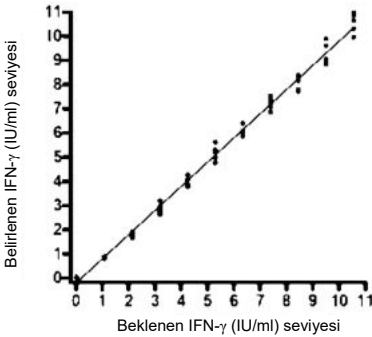


Şekil 10. TB1 ve TB2 değerleri (nil çıkarılmış) arasında gözlemlenen fark, riske göre sınıflandırılmıştır. Düşük riskli popülasyon (n=409), karışık riskli popülasyon (n=189) ve kültürle doğrulanmış *M. tuberculosis* enfeksiyonu olan bir popülasyon (n=141). TB1 değerleri TB2 değerlerinden çıkarılmıştır. Doğrusal tahlil aralığının dışında oldukları için >10,0 IU/ml TB1 veya TB2 değerleri olan kişiler çalışma dışında bırakılmıştır.

Tahlil performans özellikleri

QFT-Plus ELISA'nın, ELISA plakasına IFN- γ konsantrasyonlarının bilinen 11 plazma havuzunun 5 tekrarı rastgele yerleştirilerek doğrusal olduğu gösterilmiştir. Doğrusal regresyon çizgisi $1,002 \pm 0,011$ 'lik bir eğime ve 0,99 değerinde bir korelasyon katsayısına sahiptir (Şekil 11).

QFT-Plus ELISA tespit sınırı 0,065 IU/ml'dir ve 10.000 IU/ml'ye kadar IFN- γ konsantrasyonlarında yüksek doz hook (prozon) etkisi kanıtı bulunmamaktadır.



Şekil 11. QFT-Plus ELISA'nın doğrusallık profili

QFT-Plus ELISA'nın tahlil içi ve tahliller arası hata payı (%CV), çeşitli IFN- γ konsantrasyonlarına sahip 20 plazma örneğinin 3'erli olarak, 3 farklı laboratuvarında, ardışık olmayan 3 günde ve 3 farklı operatör tarafından test edilmesiyle tahmin edilmiştir. Böylece her örnek 9 bağımsız tahlil çalışmasında, 27 defa test edilmiştir. Örneklerden nil kontrol olan birisinin hesaplanan IFN- γ konsantrasyonu 0,08 IU/ml (%95 CI: 0,07–0,09) olarak tespit edilmiştir. Kalan 19 plazma örneğinden, konsantrasyon değeri aralığı 0,33 (%95 CI: 0,31–0,34) ila 7,7 IU/ml (%95 CI: 7,48-7,92) olarak tespit edilmiştir.

Çalışma içi veya tahlil içi hata payı, çalıştırılan (n=9) her plakadan IFN- γ içeren her bir test plazması için %CV'lerin ortalaması alınarak tahmin edilmiştir ve elde edilen hata payı değeri %4,1 ila 9,1 CV arasında olmuştur. Ortalama çalışma içi kovaryans (\pm %95 CI) %6,6 \pm %0,6 olmuştur. Ortalama sıfır IFN- γ plazma değeri %14,1 CV olmuştur.

Toplam veya tahliller arası hata payı, her bir test plazması örneği için hesaplanan 27 IFN- γ konsantrasyonu kıyaslanarak belirlenmiştir. Tahliller arası hata payı %6,6 ila 12,3 CV arasında olmuştur. Genel ortalama %CV (\pm %95 CI) %8,7 \pm 0,7 olmuştur. Sıfır IFN- γ plazma, %26,1 CV değeri göstermiştir. Bu düzeyde bir varyasyon beklenmiştir çünkü hesaplanan IFN- γ konsantrasyonu düşüktür ve düşük bir konsantrasyon tahminindeki varyasyon, daha yüksek konsantrasyona kıyasla daha fazla olur.

QFT-Plus testinin yeniden üretilebilirliği, *M. tuberculosis* enfeksiyonu için karışık risk faktörleri olan 102 kişiden elde edilen kan örnekleri kullanılarak belirlenmiştir. Üç farklı operatör ve laboratuvar koşulu değerlendirilmiştir.

Her bir kişi için toplam 3 ve tüm kişiler için toplamda 306 tanı amaçlı tayin yapılmıştır. Toplamda tanı yeniden üretilebilirliği %99 (%95 CI: 97,2–99,7) olmuş ve tanı amaçlı sonuç 306 tayinin 303'ünde uyumlu olmuştur. Eşik değerine yakın olan 3 kişinin sonucu tüm değişkenler için hesaplanmıştır.

LTBI Tanısı

MTB enfeksiyonu için risk altında olan çeşitli popülasyonlarda, QFT'nin performansını, QFT-Plus'ın prekürsörünü gösteren birkaç çalışma yayınlanmıştır. Seçilen bazı çalışmaların başlıca bulguları Tablo 7 içinde gösterilmiştir.

Tablo 7. QFT ile ilgili seçilmiş yayınlanan çalışmalar

Popülasyon/durum	Sonuçlar ve bulgular	Toplam yayınlanan çalışma sayısı
Pediyatrik	ELISpot temelli IGRA'dan daha yüksek doğrulukla, 5 yaşından küçük çocuklar (45–46) dahil olmak üzere, çocuklarda kanıtlanmış performans (8). Vietnam, Filipinler ve Meksika'dan çocuklarda QFT ve TST'yi karşılaştıran şu ana kadar yapılmış olan en büyük çalışma, LTBI için yabancı doğumlu çocukların test edilmesine yönelik olarak TST ile kıyaslandığında öncelikli olarak QFT'nin kullanımını desteklemektedir (46). Sınırlı bir temas çalışması, çocuklarda TST'ye göre daha iyi tahmini değer (47) ve QFT'ye geçiş yapmayanlarla karşılaştırıldığında QFT'ye geçiş yapanlar arasında iki yıl içinde 8 kat daha yüksek TB hastalığına ilerleme göstermektedir (48). QFT-negatif/TST-pozitif tutarsızlığı BCG aşısı yapılan çocuklarda yüksektir (46, 49) ancak 5 yaşın altındaki çocuklarda (49) Mitogen yanıtı üzerine herhangi bir etki ve göçmen çocukların rutin taraması sırasında düşük şüpheli oranlar söz konusu olmamıştır (46).	152
Hamilelik	Düşük yüklü bir ortamda, hamile olmayan kadınlarla karşılaştırılabilir sonuçlarla birlikte, QFT hamileliğin her üç trimesterinde eşit ölçüde iyi performans göstermektedir, en azından duyarlılık olarak çok daha spesifiktir ve TST'ye kıyasla hastalık ilerlemesinin daha iyi bir öngörücüsü olabilir (50). Yüksek yüklü bir ortamda, QFT hamilelik boyunca daha stabildir ve yazarların hamileliğin hem QFT'yi hem de TST'yi etkilediği sonucuna varmalarına rağmen, TST ile karşılaştırıldığında arka plan LTBI prevalansını daha yakından tahmin edebilmiştir (51).	6

Tablonun devamı bir sonraki sayfadadır

Tablo 7. QFT ile ilgili seçilmiş yayınlanan çalışmalar (devamı)

Popülasyon/durum	Sonuçlar ve bulgular	Toplam yayınlanan çalışma sayısı
HIV/AIDS	Hem IGRA'lar hem de TST HIV enfeksiyonundan etkilenen ve kanıtların tümü, sonuçlar yorumlanırken CD4+ sayımları <200 olanlarda dikkatli olunması gerektiğini ortaya koymaktadır (52). QFT'nin ELISpot temelli IGRA ve TST'den daha az etkilendiği ortaya konmuştur (53–55). Bu popülasyonda tek IGRA ziyareti, TST yetersiz geri dönüş oranları sorununu ortadan kaldırır (53).	101
İmmünosupresif tedaviler	QFT, TST'ye kıyasla immünosupresif tedavilerden daha az etkilenen ve TB risk faktörleriyle daha iyi korele olmaktadır (23, 27). QFT, yanlış pozitif sonuçları en aza indirecek ve TST ile gerçekleştirilecek gereksiz tedaviyi azaltacak şekilde romatizmal hastalığı olan hastalarda daha yüksek duyarlılığa (23, 56, 57) ve TST'ye kıyasla daha yüksek özgüllüğe sahiptir (23, 57, 58).	112
Sağlık hizmeti çalışanları	TST'ye kıyasla daha az yanlış pozitif sonuçlarla daha spesifik ve TST'ye göre daha uygun maliyetli olduğu ortaya konmuştur (59–62). Eşik değer etrafındaki değişkenlik, iki değerli kesme noktası ve bir biyolojik testin doğal değişkenliği nedeniyle, seri testte beklenen bir bulgudur (63). Çalışmalar, düşük riskli sağlık hizmeti çalışanlarının seri testinde TST'ye göre daha yüksek dönüşüm/ters çevirme oranları göstermiştir (64, 65). ABD CDC, IGRA dönüşümünü belirlemek için hafif kriterlerin, TST'nin daha katı kantitatif kriterleriyle gözlenenden daha fazla dönüşüme neden olabileceğini ve tekrar test etme stratejilerinin dönüşüm/ters çevirme fenomenini yönetmede etkili olabileceğini gösterdiğini kabul etmektedir (65–68).	111
TB temasları	TST'ye kıyasla daha yüksek PPV ve NPV (47); özellikle BCG aşısı yapılmış bireylerde ve BCG aşılama yapan ülkelerden (70, 71) popülasyonlarda geri dönme ihtimali düşük olanlar için tek ziyaret uygunluğu (63), maruz kalmayla daha iyi ilişki (69).	89
Transplantasyon	En az TST kadar etkili olduğu ancak TST'ye kıyasla son evre organ hastalığından daha az etkilendiği gösterilmiştir (22).	23

Tablonun devamı bir sonraki sayfadadır

Tablo 7. QFT ile ilgili seçilmiş yayınlanan çalışmalar (devamı)

Popülasyon/durum	Sonuçlar ve bulgular	Toplam yayınlanan çalışma sayısı
Diyabet	Sınırlı sayıda hastanın olduğu az sayıdaki yayından elde edilen çelişkili kanıtlar. Düşük yüklü alandaki bir çalışma, QFT duyarlılığının TB hastalarında diyabet tarafından riske atılmadığını belirlemiştir (72). Tanzanya'daki bir çalışma, yüksek yüklü bir ortamda, diyabetin IFN- γ üretimi üzerine negatif bir etkisinin olduğunu, HIV ve helmint enfeksiyonları gibi karıştırıcıları dikkate almada başarısız olduğunu ortaya koymuştur (73). Vietnam çalışmalarında, diyabet hastası olduğunu bildiren, anormal CXR'ler nedeniyle TB olduğundan şüphelenilen veya kültürle aktif TB (n=128) olduğu doğrulanan 838 kişide, QFT pozitifliği 10 ve 15 mm'lik TST kesme noktalarına eşit veya bu kesme noktalarından büyük olmuştur (74).	9
Son evre böbrek hastalığı	QFT pozitif sonuçları, TB'ye ilişkin risk faktörleriyle TST'ye kıyasla daha iyi korele olmaktadır ve BCG ile daha az ilişkilidir (75).	45
Göçmenler	Çalışmalar QFT'nin TST'den farklı olarak BCG'den ve yaştan etkilenmediğini göstermektedir (74). QFT'nin en uygun maliyetli yöntem olduğu gösterilmiştir (76). Düşük yüklü ortamlarda, TB'nin büyük çoğunluğu yabancı doğumlardan ve gelişten sonra latent TB'nin yeniden aktivasyonundan kaynaklanır (77). Göçmen çocuklarda QFT ve TST'yi karşılaştıran şu ana kadar yapılmış olan en büyük çalışma, latent TB enfeksiyonu için yabancı doğumlu çocukların test edilmesine yönelik olarak TST ile kıyaslandığında öncelikli olarak QFT'nin kullanımını desteklemektedir (46).	29

Teknik Bilgiler

Şüpheli sonuçlar

Şüpheli sonuçlar olağan dışıdır ve test edilen kişinin immün durumuyla ilgili olabileceği gibi, yukarıdaki kullanım talimatları izlenmezse, bir dizi teknik faktöre de bağlı olabilir.

Reaktifin saklanması, kan örneklerinin alınması veya kullanılmasında teknik sorunlardan şüpheleniliyorsa QFT-Plus testinin tamamını yeni kan numunesiyle tekrarlayın. Stimüle edilen plazmaların ELISA testi, yetersiz yıkamadan veya ELISA testinde herhangi bir prosedür sapmasından şüphelenildiği takdirde tekrarlanabilir. Düşük Mitogen veya yüksek Nil değerlerinden kaynaklanan şüpheli testlerin ELISA testinde bir hata olmadığı sürece tekrarlamada da değişmesi beklenmez. Şüpheli sonuçlar bu şekilde bildirilmelidir. Doktorlar numuneyi yeniden almayı veya uygun görüldüğü şekilde diğer prosedürleri gerçekleştirmeyi tercih edebilir.

Pıhtılaşmış plazma örnekleri

Plazma örneklerinin uzun süreli saklanmasıyla fibrin pıhtıları meydana gelirse, pıhtılaşmış materyali çöktürmek ve plazmanın pipetlenmesini kolaylaştırmak için örnekleri santrifüj edin.

Sorun Giderme Kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu ortaya çıkabilecek sorunların çözümünde yardımcı olabilir. Daha fazla bilgi için, www.QuantiFERON.com adresinde verilen teknik bilgilere başvurabilirsiniz. İletişim bilgileri için arka kapağa bakın.

ELISA Sorun Giderme

Spesifik olmayan renk oluşumu

Olası neden	Çözüm
a) Yetersiz plaka yıkaması	Plakayı en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama tamponuyla yıkayın. Kullanılan yıkayıcıya bağlı olarak 6 yıkamadan fazlası gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır.
b) ELISA kuyularının çapraz kontaminasyonu	Riski en aza indirmek için örneği pipetlerken ve karıştırırken dikkatli olun.
c) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi	Kullanılan kitin son kullanma tarihinin geçmediğinden emin olun. Sulandırılan standardın ve Konjugat 100x Konsantrenin sulandırıldığı tarihten sonraki üç ay içinde kullanıldığından emin olun.
d) Enzim Substrat Solüsyonunun kontamine olması	Mavi renklenme mevcutsa substratı atın. Temiz reaktif kapları kullanıldığından emin olun.
e) Toplama öncesinde QFT-Plus tüplerinde plazma karışımı	Santrifüj yaptıktan sonra, plazmayı toplamadan önce aşağı ve yukarı doğru pipetleme yapmaktan veya herhangi bir yolla plazmayı karıştırmaktan kaçının. İşlemin her aşamasında, jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin.

Standartların Düşük Optik Dansite Okumaları

Olası neden	Çözüm
a) Standart dilüsyon hatası	Kit Standardı dilüsyonlarının bu prospektüste anlatıldığı şekilde hazırlandığından emin olun.
b) Pipetleme hatası	Pipetlerin üretici talimatları doğrultusunda kalibre edildiğinden ve kullanıldığından emin olun.
c) İnkübasyon sıcaklığının çok düşük olması	ELISA'nın inkübasyonu oda sıcaklığında ($22 \pm 5^\circ\text{C}$) yapılmalıdır.
d) İnkübasyon süresinin çok kısa olması	Plakanın konjugat, standartlar ve örnekler ile inkübasyonu 120 ± 5 dakika sürmelidir. Enzim Substrat Solüsyonu plakada 30 dakika inkübe edilmelidir.
e) Yanlış plaka okuyucu filtresinin kullanılması	Plaka, 620 ile 650 nm arasında bir referans filtreyle 450 nm'de okunmalıdır.

ELISA Sorun Giderme

- | | |
|--|--|
| f) Reaktiflerin çok soğuk olması | Konjugat 100x Konsantre hariç tüm reaktifler, tahlile başlamadan önce mutlaka oda sıcaklığına getirilmelidir. Bu işlem yaklaşık bir saat sürer. |
| g) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi | Kullanılan kitin son kullanma tarihinin geçmediğinden emin olun. Sulandırılan standardın ve Konjugat 100x Konsantrenin sulandırıldığı tarihten sonraki 3 ay içinde kullanıldığından emin olun. |

Yüksek arka plan

- | Olası neden | Çözüm |
|--|--|
| a) Yetersiz plaka yıkaması | Plakayı en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama tamponuyla yıkayın. Kullanılan yıkayıcıya bağlı olarak 6 yıkamadan fazlası gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır. |
| b) İnkübasyon sıcaklığının çok yüksek olması | ELISA'nın inkübasyonu oda sıcaklığında ($22 \pm 5^{\circ}\text{C}$) yapılmalıdır. |
| c) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi | Kullanılan kitin son kullanma tarihinin geçmediğinden emin olun. Sulandırılan standardın ve Konjugat 100x Konsantrenin sulandırıldığı tarihten sonraki 3 ay içinde kullanıldığından emin olun. |
| d) Enzim Substrat Solüsyonunun kontamine olması | Mavi renklenme mevcutsa substratı atın. Temiz reaktif kapları kullanıldığından emin olun. |

Doğrusal olmayan standart eğri ve çift değişkenlik

- | Olası neden | Çözüm |
|--|--|
| a) Yetersiz plaka yıkaması | Plakayı en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama tamponuyla yıkayın. Kullanılan yıkayıcıya bağlı olarak 6 yıkamadan fazlası gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır. |
| b) Standart dilüsyon hatası | Standart dilüsyonlarının bu prospektüste anlatıldığı şekilde hazırlandığından emin olun. |
| c) Yetersiz karıştırma | Reaktifleri plakaya eklemekten önce ters çevirerek veya hafif vorteksleyerek iyice karıştırın. |
| d) Tutarsız pipetleme tekniği veya tahlil kurulumu sırasında kesinti | Örnek ve standart ekleme sürekliliği bir şekilde gerçekleştirilmelidir. Tüm reaktifler tahlile başlamadan önce hazırlanmalıdır. |

Ürün bilgileri ve teknik kılavuzlar, QIAGEN'den, distribütörünüzden veya www.QuantiFERON.com adresi ziyaret edilerek ücretsiz elde edilebilir.

Referanslar

1. Andersen, P. et al. (2000) Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 356, 1099.
2. Balcells, M.E. et al. (2008) A comparative study of two different methods for the detection of latent tuberculosis in HIV-positive individuals in Chile. *Int. J. Infect. Dis.* 12, 645.
3. Bartalesi, F. et al. (2009) QuantiFERON-TB Gold and TST are both useful for latent TB screening in autoimmune diseases. *Eur. Respir. J.* 33, 586.
4. Bocchino, M. et al. (2008) Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in patient candidates for anti-TNF-alpha treatment. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 27,907.
5. Brock, I. et al. (2006) Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir. Res.* 7, 56.
6. Chun, J.K. et al. (2008) The role of a whole blood interferon gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in bacille Calmette-Guerin vaccinated children. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 62, 389.
7. Connell, T.G. et al. (2008) A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS ONE* 3, e2624. doi: 10.1371/journal.pone.0002624.
8. Detjen, A.K. et al. (2007) Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.* 45, 322.

-
9. Diel, R. et al. (2009) Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold In-Tube assay, and T-Spot. TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest* 135, 1010.
 10. Diel, R. et al. (2008) Predictive value of a whole-blood IFN- γ assay for the development of active TB disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177, 1164.
 11. Diel, R. et al. (2006) Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir. Res.* 7, 77.
 12. Dogra, S. et al. (2007) Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J. Infect.* 54, 267.
 13. Drobniowski, F. et al. (2007) Rates of latent tuberculosis in health care staff in Russia. *PLoS Med.* 4, e55.
 14. Gerogianni, I. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection in an unselected Greek population. *Respirology* 13, 270.
 15. Harada, N. et al. (2008) Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection. *J. Infect.* 56, 348.
 16. Higuchi, K. et al. (2009) Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection. *Med. Microbiol. Immunol.* 198, 33.
 17. Kang, Y.A. et al. (2005) Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *JAMA* 293, 2756.

-
18. Katiyar, S.K. et al. (2008) Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 1146.
 19. Kipfer, B. et al. (2008) Tuberculosis in a Swiss army training camp: contact investigation using an Interferon gamma release assay. *Swiss. Med. Wkly.* 138, 267.
 20. Luetkemeyer, A. et al. (2007) Comparison of an interferon-gamma release assay with tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 737.
 21. Mackensen, F. et al. (2008) QuantiFERON TB-Gold - A new test strengthening long-suspected tuberculous involvement in serpiginous-like choroiditis. *Am. J. Ophthalmol.* 146, 761.
 22. Manuel, O. et al. (2007) Comparison of Quantiferon-TB Gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation. *Am. J. Transplant.* 7, 2797.
 23. Matulis, G. et al. (2007) Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases performance of a *Mycobacterium tuberculosis* antigen specific IFN-gamma assay. *Ann. Rheum. Dis.* 67, 84.
 24. Mirtskhulava, V. et al. (2008) Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among health care workers in Georgia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 513.
 25. Nakaoka, H. et al. (2006) Risk for tuberculosis among children. *Emerging Infect. Dis.* 12, 1383.
 26. Pai, M. et al. (2005) *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood, interferon-g assay with tuberculin skin testing. *JAMA* 293, 2746.

-
27. Ponce de Leon, D. et al. (2008) Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol.* 35, 776.
 28. Richeldi, L. et al. (2008) Prior tuberculin skin testing does not boost QuantiFERON-TB results in paediatric contacts. *Eur. Respir. J.* 32, 524.
 29. Rothel, J.S. and Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 3, 981.
 30. Schoepfer, A.M. et al. (2008) Comparison of interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* 103, 2799.
 31. Silverman, M.S. et al. (2007) Use of an interferon-gamma based assay to assess bladder cancer patients treated with intravesical BCG and exposed to tuberculosis. *Clin. Biochem.* 40, 913.
 32. Stebler, A. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 29, 681.
 33. Turner, J. et al. (1996) Stimulation of human peripheral blood mononuclear cells with live *Mycobacterium bovis* BCG activates cytolytic CD8+ T cells in vitro. *Immunology* 87, 339.
 34. Brookes, R.H. et al. (2003) CD8+ T cell-mediated suppression of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* growth in activated human macrophages. *Eur. J. Immunol.* 33, 3293.
 35. Stenger, S. et al. (1998) An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 282, 121.

-
36. Lalvani, A. et al. (1998) Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8+ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 270.
 37. Lewinsohn, D.M. et al. (2001) Classically restricted human CD8+ T lymphocytes derived from *Mycobacterium tuberculosis*-infected cells: definition of antigenic specificity. J. Immunol. 166, 439.
 38. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. PLoS Pathol. 3, 1240.
 39. Day, C.L. et al. (2011) Functional capacity of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cell responses in humans is associated with mycobacterial load. J. Immunol. 187, 2222.
 40. Rozot, V. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease. Eur. J. Immunol. 43, 1568.
 41. Nikolova, M. et al. (2013) Antigen-specific CD4- and CD8-positive signatures in different phases of *Mycobacterium tuberculosis* infection. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 75, 277.
 42. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. J. Infect. doi: 10.1016/j.jinf.2014.06.009. Epub.
 43. Ongaya, A. et al. (2013) Mycobacterium tuberculosis-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. Tuberculosis 93, S60.
 44. Lanicioni, C. et al. (2012) CD8+ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 185, 206.

-
45. Long, G., Ji-Chun, M., Min, Jin-Long, L., Jin-Hui, T. (2014) Interferon- γ release assay for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in children younger than 5 years: a meta-analysis. Clin. Pediatr. 53, 1255.
 46. Howley, M.M. et al. (2015) Evaluation of QuantiFERON-TB Gold In-Tube and tuberculin skin tests among immigrant children being screened for latent tuberculosis infection. Ped. Infect. Dis. 34, 35.
 47. Diel, R., Loddenkember, R., Niemann, S., Meywald-Walter, K., and Nienhaus, A. (2011) Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon- γ release assay for developing active tuberculosis. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 183, 88.
 48. Machingadaize, S. et al. (2012) Predictive value of recent QuantiFERON conversion for tuberculosis disease in adolescents. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 186, 1051.
 49. Riazi, S. et al. (2012) Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children using interferon-gamma release assays (IGRAs). Allergy Asthma Proc. 33, 217.
 50. Lighter-Fisher, J. and Surette, A-M. (2012) Performance of an interferon-gamma release assay to diagnose latent tuberculosis infection during pregnancy. Obstet. Gynecol. 119, 1088.
 51. Mathud, J.S. et al. (2014) Pregnancy differentially impacts performance of latent tuberculosis diagnostics in a high-burden setting. PLoS ONE 9, e92308.
 52. Hoffman, M. and Ravn, P. (2010) The use of interferon-gamma release assays in HIV-positive individuals. Eur. Infect. Dis. 4, 23.
 53. Cheallagh, C.N. et al. (2013) Interferon gamma release assays for the diagnosis of latent TB infection in HIV-infected individuals in a low TB burden country. PLoS ONE 8, e53330.














-
54. Ramos, J. M. et al. (2012) Contribution of interferon gamma release assays testing to the diagnosis of latent tuberculosis infection in HIV-infected patients: A comparison of QuantiFERON-TB gold in tube, T-SPOT.TB and tuberculin skin test. *BMC Infect. Dis.* 12, 169.
 55. Wolf, T. et al. (2013) Tuberculosis skin test, but not interferon- γ releasing assays is affected by BCG vaccination in HIV patients. *J. Infect.* 66, 376.
 56. Hsia, E.C. et al. (2012) Interferon- γ release assay versus tuberculin skin test prior to treatment with golimumab, a human anti-tumor necrosis factor antibody, in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 64, 2068.
 57. Garcovich, S. et al. (2012) Clinical applicability of QuantiFERON-TB-Gold testing in psoriasis patients during long-term anti-TNF-alpha treatment: a prospective, observational study. *J. Eur. Acad. Dermatol. Ven.* 26, 1572.
 58. Kwakernaak, A.J. et al. (2011) A comparison of an interferon-gamma release assay and tuberculin skin test in refractory inflammatory disease patients screened for latent tuberculosis prior to the initiation of a first tumor necrosis factor α inhibitor. *Clin. Rheumatol.* 30, 505.
 59. Vinton, P. et al. (2009) Comparison of QuantiFERON-TB Gold In-Tube test and tuberculin skin test for identification of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in healthcare staff and association between positive test results and known risk factors for infection. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 30, 215.
 60. de Perio, M.A., Tsevat, J., Roselle, G.A., Kralovic, S.M., and Eckman, M.H. (2009) Cost-effectiveness of interferon gamma release assays vs tuberculin skin tests in health care workers. *Arch. Intern. Med.* 169, 179.

-
61. Nienhaus, A. et al. (2008) Evaluation of the interferon- γ release assay in healthcare workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 81, 295.
 62. Nienhaus, A. et al. (2011) Systematic review of cost and cost-effectiveness of different TB-screening strategies. *BMC Health Serv. Res.* 11, 247.
 63. Centers for Disease Control and Prevention (2010) Updated guidelines for using interferon-gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection — United States, 2010. *MMWR Recomm. Rep.* 59 (RR-5), 1.
 64. Dorman, S.E. et al. (2014) Interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for diagnosis of latent tuberculosis infection in healthcare workers in the United States. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 189, 77.
 65. Fong, K.S. et al. (2012) Challenges of interferon-gamma release assay conversions in serial testing of health care workers in a tuberculosis control program. *Chest* 142, 55.
 66. Thanassi, W. et al. (2012) Delineating a retesting zone using receiver operating characteristic analysis on serial QuantiFERON tuberculosis test results in US healthcare workers. *Pulm. Med.* doi: 10.1155/2012/291294. Epub.
 67. Behrman, A. et al. (2013) Protecting Health Care Workers from Tuberculosis, 2013: ACOEM Medical Center Occupational Health Section Task Force on Tuberculosis and Health Care Workers. *J. Occup. Environ. Med.* 55, 985.
 68. Nienhaus, A., Ringshausen, F.C., Costa, J.T, Schablon, A., and Tripodi, D. (2013) IFN- γ release assay versus tuberculin skin test for monitoring TB infection in healthcare workers. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 11, 37.
 69. Arend, S.M. et al. (2007) Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing TB contact. *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 618.

-
70. Mandalakas, A.M., Detjen, A.K., Hesselning, A.C., Benedetti, A., and Menzies, D. (2011) Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 1018.
 71. Grinsdale, J.A., Ho, C.S., Banouvong, H., Kwamura, L.M. (2011) Programmatic impact of using QuantiFERON-TB Gold in routine contact investigation activities. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 1614.
 72. Walsh, M.C. et al. (2011) Sensitivity of interferon- γ release assays is not compromised in tuberculosis patients with diabetes. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 179.
 73. Faurholt-Jespén, D. et al. (2014) Diabetes is associated with lower tuberculosis antigen-specific interferon gamma release in Tanzanian tuberculosis patients and non-tuberculosis controls. *Scand. J. Infect. Dis.* 46, 384.
 74. Painter, J.A. et al. (2013) Tuberculosis screening by tuberculosis skin test or QuantiFERON-TB Gold In-Tube Assay among an immigrant population with a high prevalence of tuberculosis and BCG vaccination. *PLoS ONE* 8, e82727.
 75. Rogerson, T.E. et al. (2012) Tests for latent tuberculosis in people with ESRD: a systematic review. *Amer. J. Kidney Dis.* 61, 33.
 76. Pareek, M. et al. (2013) Community-based evaluation of immigrant tuberculosis screening using interferon γ release assays and tuberculin skin testing: observational study and economic analysis. *Thorax.* 68, 230.
 77. CDC, Tuberculosis — United States, 2018.
https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/mm6811a2.htm?s_cid=mm6811a2_w
Accessed 22 March 2019.

Semboller

Aşağıdaki semboller ambalaj ve etiket üzerinde görülebilir:

Sembol	Sembol tanımı
 2 x 96	2 x 96 örnek hazırlığı için yeterlidir
	Yasal üretici
	CE-IVD işaretli sembol
	İn vitro tanı amaçlı kullanım içindir
	Parti kodu
	Katalog numarası
	Küresel Ticaret Parça Numarası
	Son kullanma tarihi
	Sıcaklık sınırlaması
	Kullanma talimatına başvurun
	Tekrar kullanmayın
	Güneş ışığından uzak tutun
	Materyal numarası
Rn	R, Kullanma Talimatı revizyonu olup n ise revizyon numarasıdır

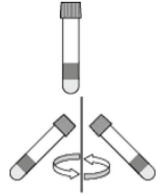
İletişim Bilgileri

Teknik destek ve daha fazla bilgi için lütfen ücretsiz 00800-22-44-6000 numaralı telefonu arayın, **www.qiagen.com/contact** adresindeki Teknik Destek Merkezi'ne bakın ya da QIAGEN Teknik Servis Bölümlerinden birine başvurun (arka kapağa bakın veya **www.qiagen.com** adresini ziyaret edin).

Kısaltılmış Test Prosedürü

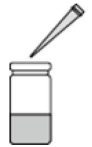
1. Aşama – kan inkübasyonu

1. Hastanın kanını kan alma tüplerine alın ve on (10) defa, tüplerin iç yüzeyinin tamamen kanla kaplanmasına yetecek kadar güçlü bir şekilde çalkalayın. Bu işlem tüp duvarlarındaki antijenleri çözer.
2. Tüpleri dik olarak $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 16 ila 24 saat süresince inkübe edin.
3. İnkübasyondan sonra, plazma ve eritrositlerin ayrılması için 15 dakika, 2000 ila 3000 $\times g$ RCF (g) hızda santrifüjleyin.
4. Santrifüj yaptıktan sonra, toplamadan önce aşağı ve yukarı pipetleme yapmaktan veya herhangi bir yolla plazmayı karıştırmaktan kaçının. İşlemin her aşamasında, jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin.



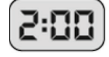
2. Aşama – IFN- γ ELISA

1. Konjugat 100x Konsantre hariç, ELISA reaktiflerini çalışma sıcaklığına getirmek için oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) en az 60 dakika bekletin.
2. Kit standardını 8,0 IU/ml olacak şekilde distile veya deiyonize suyla sulandırın. Dört (4) standart dilüsyonunu hazırlayın.
3. Dondurularak kurutulmuş Konjugat 100x Konsantreyi distile veya deiyonize suyla sulandırın.
4. Çalışma konjugatını Yeşil Seyreltici ile hazırlayın ve her kuyuya 50 μl ekleyin.



5. İlgili kuyulara 50 µl test plazma örneği ve 50 µl standart ekleyin.
Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.

6. Oda sıcaklığında 120 ± 5 dakika inkübe edin.



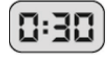
7. Kuyuları en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama tamponuyla yıkayın.



8. Kuyulara 100 µl Enzim Substrat Solüsyonu ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.



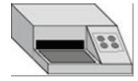
9. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edin.



10. Tüm kuyulara 50 µl Enzim Substrat Solüsyonu ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.



11. Sonuçları 620 ile 650 nm arasında bir referans filtreyle 450 nm'de okuyun.



12. Sonuçları analiz edin.



Önemli Değişiklikler

Kısım	Sayfa	Değişiklikler
Çeşitli	Çeşitli	Lityum heparin veya sodyum heparinli tüpün kullanımına ilişkin talimatlar eklendi
Çeşitli	Çeşitli	2–8°C'de kan alma iş akışıyla ilgili talimatlar eklendi
Çeşitli	Çeşitli	Plaka kapağı artık gerekli olan ancak sağlanmayan materyaller arasındadır

El Kitabı Revizyon Geçmişi

Belge	Değişiklikler
R6 04/2019	Lityum heparin/Sodyum heparin değişiklikleri 2–8°C'de kan alma iş akışına yönelik yeni çalışma talimatları Plaka kapakları QF Plakalarından çıkarıldı

Ticari markalar: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN Grubu); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA İçin Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanımı herhangi bir alıcının veya ürün kullanıcısının aşağıdaki koşulları kabul ettiği anlamına gelir:

1. rn yalnızca ürünle ve bu prospektüste verilen protokollere uygun olarak kullanılabilir ve yalnızca kitin içinde bulunan bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN bu panelin kapalı bileşenlerinin, ürünler birlikte verilen protokollerde belirtilenlerin dışında bu kitin içinde yer almayan herhangi bir bileşenle kullanımı veya birleştirilmesi için kendi fikri mülkiyet haklarının herhangi biri altında lisans hakkı vermez.
2. Açıkça belirtilen lisanslar dışında, QIAGEN bu panel ve/veya kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmeyeceğini garanti etmez.
3. Bu kit ve bileşenleri bir kez kullanım için lisanslıdır ve QIAGEN tarafından aksi belirtilmedikçe tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açık olarak belirtilenler dışında açık veya zımnı herhangi bir başka lisansı özellikle reddeder.
5. Kitin satın alıcısı ve kullanıcısı yukarıda yasaklanan herhangi bir eyleme neden olabilecek veya bunları kolaylaştırabilecek herhangi bir adım atmamayı veya başkasının atmasına izin vermemeyi kabul eder. QIAGEN herhangi bir Mahkemede bu Sınırlı Lisans Anlaşması yasaklamalarını uygulayabilir ve bu sınırlı lisans anlaşmasının veya kit ve/veya bileşenleriyle ilgili fikri mülkiyet haklarının herhangi birinin uygulanmasına yol açan tüm durumlarda avukat creti dahil tüm soruşturma ve mahkeme masraflarını geri alabilir.

Güncellenmiş lisans Őartları için bkz. www.qiagen.com.

© 2019 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

www.QuantiFERON.com

Asya-Pasifik | techservice-ap@qiagen.com

Avrupa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Orta Doğu/Afrika | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Latin Amerika (Brezilya veya Meksika hariç) | techservice-latam@qiagen.com

Notlar

Notlar

